

Il recettore dell'insulina: non solo metabolismo *The insulin receptor: not only metabolism*

Laura Sciacca

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Sezione
Endocrinologia, Università degli Studi di Catania

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2503a>



ABSTRACT

The insulin receptor (IR) is a tetrameric, tyrosine-kinase receptor, composed of two α -subunits and two transmembrane β -subunits. Alternative splicing of exon 11 generates two structurally different isoforms: IR-A and IR-B. The 12 amino acids derived from exon 11 are included in the IR-B isoform but not in the IR-A isoform. IR-A predominates in tissues with more active proliferation, it is mainly expressed in embryonal and fetal tissues, central nervous system (CNS), hematopoietic cells and cancer cells. IR-B is predominantly expressed in adult, well-differentiated tissues, it mediates metabolic insulin actions in liver, muscle and fat. The mechanisms that regulate IR isoform expression are complex and not fully understood. The most relevant functional difference between these two isoforms is the high affinity of IR-A for Insulin-like Growth Factor II (IGF-II), whereas IR-B has a low affinity for IGF-II.

In murine embryonal fibroblasts deprived of Insulin-like Growth Factor I receptor (IGF-IR), IGF-II is able to stimulate cell proliferation through the IR-A isoform. Studies in different breast cancer cells demonstrate that IR-A, the high affinity receptor for IGF-II, promotes cell proliferation. In addition, in various sarcoma cells autocrine IGF-II induces cell invasion and protection from apoptosis via IR-A. These data are confirmed in patients with osteosarcoma, who show elevated serum IGF-II, associated with survival reduction. Both stromal and epithelial cancer cells can locally produce IGF-II, thus suggesting that an autocrine/paracrine IGF-II/IR-A loop promotes cancer cell proliferation.

In agreement with differential roles of insulin receptor isoforms described above, mature human osteoblasts mainly express IR-B, whereas IR-A is more expressed in osteoblast precursors.

Accordingly, insulin receptor isoforms A and B stimulate different intracellular signaling pathways. When activated by insulin, the IR-B mainly generates metabolic effects, whereas the IR-A, activated by insulin or IGF-II, mediates mitogenic effects.

KEYWORDS

Insulin receptor isoforms, IGF-II, cancer, autocrine/paracrine loop.

INTRODUZIONE

Il recettore dell'insulina (IR), una proteina tirosin-chinasi fisiologicamente presente in tutti i tessuti dei mammiferi, è un etero-tetramero composto da due α -subunità extracellulari che presentano il sito di legame dell'ormone e due β -subunità transmembrana. Le subunità α e β sono legate tra loro da legami disolfuro. Il recettore dell'insulina e quello dell'IGF-1 (IGF-1R) sono omologhi: a livello delle rispettive subunità β che mediano il segnale intracellulare l'omologia è dell'80%. I due recettori condividono molte vie intracellulari del segnale ormonale. L'insulina, legandosi

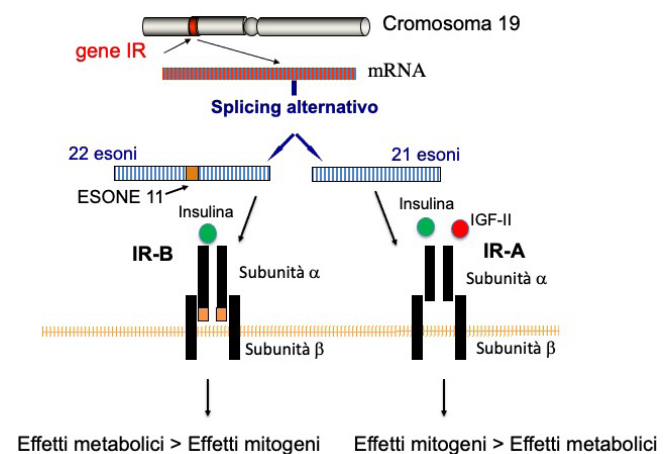
al proprio recettore di membrana, esplica azioni metaboliche e mitogene attivando due vie intracellulari principali: la via prevalentemente metabolica, mediata dalla fosfo-inositolo-chinasi 3 (PI3-K) e la via prevalentemente mitogena, mediata dalla MAP-chinasi (MAPK) (1). L'insulino-resistenza, presente in molte condizioni cliniche tra cui il diabete di tipo 2 e l'obesità, è caratterizzata da un difetto selettivo della via metabolica, mentre la via mitogena è relativamente integra e quindi capace di rispondere allo stimolo insulinico (2). L'iperinsulinemia compensatoria che si instaura nelle condizioni di insulino-resistenza potrebbe, quindi, determinare un'attivazione della via mitogena, favorendo la crescita cellulare e, potenzialmente, quella neoplastica. Non esistono prove dirette che l'iperinsulinemia possa innescare una trasformazione maligna, anche se studi *in vitro* suggeriscono che ciò possa verificarsi quando le cellule esprimono IR a livelli molto elevati. In ogni caso, questo processo richiede un tempo di latenza molto lungo, poiché anche agenti cancerogeni potenti possono richiedere diversi decenni per causare il cancro (3). L'insulina e l'IGF-1 hanno una omologia del 40-50% e le due molecole possono cross-reagire a livello recettoriale, sebbene ad una affinità di legame inferiore rispetto a quella per il proprio recettore. L'insulina per esercitare i suoi effetti attraverso IGF-1R deve essere presente ad alte concentrazioni (come si può verificare in condizioni di iperinsulinemia endogena o esogena).

Il recettore dell'insulina esiste in due isoforme (IR-A e IR-B) generate da uno splicing alternativo dell'esone 11 (4). L'esone 11 codifica per 12 aminoacidi presenti nella porzione carbossi-terminale della subunità α del recettore. L'isoforma B (IR-B) presenta i 12 aminoacidi mentre l'isoforma A (IR-A) è più corta perché manca dei 12 aminoacidi. Tra i fattori che regolano lo splicing alternativo vi sono: CUG triplet repeat, RNA binding protein 1 (CUG-BP1), heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNP), le proteine SR (ricche di serina/arginina) e le proteine Muscleblind-like (MBNL). Tuttavia, i meccanismi di splicing sono complessi e solo parzialmente compresi (5, 6). I tessuti bersaglio dell'insulina, sede degli effetti metabolici, esprimono prevalentemente l'isoforma B di IR, mentre l'isoforma A è prevalentemente espressa nei tessuti a rapido turnover, con prevalenza degli effetti mitogeni, come i tessuti fetali, la placenta e i tessuti neoplastici (7-12). Nei tessuti possono essere espressi sia i recettori tipici (omo-tetrameri IR e IGF-1R) che i recettori ibridi (etero-tetrameri) in tutte le combinazioni: un emi-recettore dell'insulina con un emi-recettore dell'IGF-1 (IR/IGF-1R), e quindi sia emi-recettore dell'isoforma A con emi-recettore IGF-1R (IR-A/IGF-1R), sia emi-recettore dell'isoforma B con emi-recettore IGF-1R (IR-B/IGF-1R), ma anche emi-recettore dell'isoforma A con emi-recettore dell'isoforma B (IR-A/IR-B) (11, 12).

IR-B lega l'insulina con alta affinità, IGF-I e IGF-II con bassa affinità, mentre IR-A lega con alta affinità sia l'insulina che l'IGF-II e con bassa affinità l'IGF-I (7, 10, 11, 13, 14). Inoltre, lo stesso recettore, stimolato da due ligandi con affinità di legame simile, può avere effetti biologici diversi, come si verifica per IR-A attivato da insulina e da IGF-II (11, 15) (Fig. 1). Inoltre, le isoforme di IR hanno effetti diversi sulla proliferazione e sulla sopravvivenza cellulare in presenza o in assenza di insulina. Entrambe le isoforme di IR riducono la crescita cellulare quando non sono legate all'insulina e promuovono la crescita cellulare in presenza di insulina. Questo effetto è maggiore per IR-A. Allo stato non occupato entrambe le isoforme riducono la resistenza cellulare al danneggiamento del DNA rispetto alle cellule che non esprimono IR. Questo effetto è maggiore per IR-B. Al contrario, dopo il legame con l'insulina, IR-A diventa più efficace di IR-B nel proteggere le cellule dall'apoptosi (16).

È noto che la placenta esprime elevate quantità sia di IR che di IGF-1R. È stato riportato che la placenta delle don-

Figura 1 ♦ Rappresentazione schematica delle isoforme del recettore dell'insulina (IR)



Le isoforme IR-A e IR-B sono generate dallo splicing alternativo dell'esone 11 che codifica per un segmento di 12 aminoacidi nella porzione C-terminale della subunità α , presente nell'IR-B ma non nell'IR-A. Questa differenza è causa di modifiche nella struttura e nella funzione. IR-A è in grado di legare ad alta affinità sia insulina che IGF-II e media prevalentemente effetti mitogeni. IR-B, al contrario, lega ad alta affinità solo l'insulina e media maggiormente effetti metabolici.

ne diabetiche presenta alterazioni strutturali e funzionali e che il sistema insulina/IGF potrebbe svolgere un ruolo in questi cambiamenti. Il contenuto di IR, di IGF-1R e la loro fosforilazione è stato misurato nella placenta di donne affette da diabete mellito di tipo 1 (DMT1) o da diabete mellito gestazionale (GDM) rispetto a gravide con normale tolleranza al glucosio (NGT). Nella placenta delle pazienti con DMT1, che presentavano un aumento della glicemia prima e durante la gravidanza, la fosforilazione di IGF-1R e l'espressione di IR-A erano significativamente aumentate rispetto alle donne con normale tolleranza al glucosio. Entrambi questi meccanismi potrebbero promuovere una crescita fetale eccessiva (17).

Le isoforme di IR hanno un ruolo anche nella fisiopatologia del tessuto osseo. Gli osteoblasti maturi umani esprimono principalmente IR-B, mentre i precursori degli osteoblasti esprimono prevalentemente IR-A, con un rapporto IR-B/IR-A che aumenta durante la differenziazione osteogenica (18). Quando le cellule dei precursori ossei sono state trasfettate per iperesprimere IR-A, è stato osservato un aumento della proliferazione cellulare, mentre al contrario l'iperespressione di IR-B ha ridotto la crescita cellulare. Pertanto, l'isoforma IR-B sembra essere coinvolta nella differenziazione dei precursori degli osteoblasti (18).

Data la complessità del sistema, gli effetti biologici nei vari tessuti possono quindi essere molto diversi a seconda della prevalenza dei recettori omo-tetrameri o dei recettori ibridi ma anche della presenza o assenza dei ligandi e della loro concentrazione.

ESPRESSIONE DI IR NEL CANCRO

Numerosi dati in letteratura indicano che l'iperespressione di IR è una caratteristica di molti tumori e questa osservazione è confermata quando il contenuto di IR viene misurato nel tessuto di cancro e in quello normale adiacente degli stessi pazienti (7, 8, 10). Molti anni fa abbiamo riportato che il valore medio di IR nel cancro mammario era più di sei volte superiore a quello del tessuto mammario normale (19). L'iperespressione di IR è correlata alle dimensioni del tumore, alla stadiazione del cancro e all'espressione del recettore degli estrogeni (ER) (19). Nei campioni di carcinoma mammario linfonodo-negativo il contenuto di IR è un importante fattore predittivo di una ridotta sopravvivenza libera da malattia (DFS) (20). Negli anni successivi molti studi hanno confermato l'iperespressione di IR nel cancro, che è considerata, insieme all'iperinsulinemia, la ragione dell'aumento di cancro mammario nelle donne con obesità e diabete (21). Nelle cellule tumorali la risposta biologica all'insulina non può essere prevista solo sulla base dei livelli di espressione di IR e IGF-1R. Studi in vitro indicano che in diverse linee cellulari di cancro con diversa espressione di IR e IGF-1R, l'insulina stimola la proliferazione cellulare in tutte le linee cellulari ma con un'efficacia diversa non necessariamente correlata al contenuto del recettore. Ciò si potrebbe spiegare con la presenza di altri fattori (genetici e ambientali) che influenzano la crescita cellulare (22). È noto che l'insulino-resistenza dipende principalmente dal malfunzionamento delle vie intracellulari di trasduzione del segnale metabolico (2). L'iperinsulinemia compensatoria per superare la resistenza stimola la via mitogenica e promuove la proliferazione cellulare. Questo effetto deleterio dell'iperinsulinemia è più marcato nelle cellule tumorali perché spesso iperesprimono IR. In particolare, nel cancro IR è espresso prevalentemente come isoforma A (23) (Tab. 1). Un'aumentata espressione dell'mRNA di IR-A con una ridotta espressione di IR-B determina un aumento del rapporto IR-A/IR-B, come è stato riportato per il carcinoma della mammella (24, 25). Il rapporto IR-A/IR-B è significativamente maggiore nel sottotipo luminale B, caratterizzato da resistenza al tamoxifene e prognosi più sfavorevole, rispetto all'istotipo luminale A, caratterizzato da risposta alla terapia ormonale e prognosi relativamente buona (25). È plausibile che la disregolazione dell'espressione delle isoforme di IR, con un aumento del rapporto IR-A/IR-B, sia correlata a un tumore più aggressivo e prognosticamente sfavorevole. Pertanto, l'espressione delle isoforme di IR nel cancro mammario può essere utilizzata come biomarcatore predittivo per la terapia anti-tumorale (26, 27). Nelle cellule maligne della mammella è aumentata l'espressione di IR-A e l'IGF-II, secreto sia dalle cellule epiteliali che da quelle stromali, lega e attiva sia IR che IGF-1R. Gli effetti mitogeni vengono quindi potenziati grazie all'elevata affinità di legame di IR-A per IGF-II (10, 28). Nelle cellule di cancro mammario, il blocco di IR o di IGF-II inibisce marcatamente la crescita, dimostrando l'importanza del meccanismo IR-A/IGF-II nella proliferazione cellulare (10). Un'aumentata espressione di IR è stata riscontrata anche nel cancro della tiroide

Tabella 1 ♦ **Contenuto totale di IR e proporzione di IR-A in tessuti di cancro e tessuti normali**

TESSUTO	IR	IR-A (%)	
	(ng/0.1 mg PROTEINE)	MEDIANA	RANGE
Cancro mammella (n = 12)	3.2±1.8**	73**	40-80
Normale (n = 12)	0.5±0.3	43	30-50
Cancro polmone (n = 6)	1.1±0.3	53	30-60
Normale (n = 6)	0.5±0.1	39	30-55
Cancro colon (n = 10)	1.8±0.5*	68**	65-80
Normale (n = 10)	1.3±0.4	35	30-65
Cancro tiroide			
Differenziato (n = 18)	6.9±4.8*	55*	41-65
Indifferenziato (n = 4)	12.6±9.6*	71**	61-75
Normale (n = 6)	1.3±0.5	44	40-51

Contenuto di IR misurato tramite ELISA. IR-A misurata tramite RT-PCR. I campioni di tessuto di cancro insieme a campioni di tessuto normale adiacente sono stati prelevati dallo stesso soggetto. * p<0.05; ** p<0.01 cancro vs. normale. Modificata da (23).

(29). In particolare, l'espressione di IR è aumentata sia nei carcinomi tiroidei differenziati sia nei noduli tiroidei benigni non funzionanti ("freddi"), ma non negli adenomi iperfunzionanti altamente differenziati. Questi risultati suggeriscono che l'iperespressione di IR può avere un ruolo nella tumorigenesi precoce del cancro della tiroide (30). Un'aumentata espressione di IR-A e la produzione di IGF-II sono state osservate anche in colture primarie di cellule di cancro della tiroide e in tessuti di cancro della tiroide rispetto alle cellule tiroidee normali dello stesso paziente (9). La fosforilazione di IR dovuta all'aumento di IGF-II attiva un meccanismo autocrino/paracrino di promozione della crescita nelle cellule tumorali. Questo meccanismo, insieme alle alterazioni delle proteine della famiglia p53, diventa predominante nei carcinomi tiroidei scarsamente differenziati e anaplastici rispetto a quelli ben differenziati (9, 31). L'aumento anomalo sia di IR-A che di IGF-1R è stato riscontrato anche nelle cellule progenitrici/staminali coltivate come tireosfere, mentre si riduce notevolmente durante la differenziazione, quando diventa predominante l'espressione di IR-B (32). Un'aumentata espressione di IR-A è stata osservata sia nei campioni di tessuto che nelle linee cellulari di osteosarcoma umano. Le cellule di osteosarcoma producono alti livelli di IGF-II. Il meccanismo autocrino/paracrino IR-A/IGF-II potrebbe dunque avere un ruolo rilevante e dovrebbe essere considerato nella strategia di trattamento dell'osteosarcoma (33). L'isoforma A di IR è predominante anche in altri tipi di sarcoma come il leiomioma e il rhabdomyosarcoma (34, 35) (Tab. 2). In una linea cellulare di leiomioma, naturalmente priva di IGF-1R, IGF-II media la crescita e l'invasione cellulare attraverso IR-A, che è l'isoforma prevalentemente espressa (35). Pertanto, come strategia terapeutica nei cancro, per inibire completamente gli effetti biologici dell'IGF-II autocrino, è necessario bloccare sia IR-A che IGF-1R.

Tabella 2 ♦ **Contenuto di IR ed espressione delle isoforme IR-A e IR-B in cellule di cancro mammario e di sarcoma**

LINEE CELLULARI	IR (ng/0.1 mg PROTEINE)	IR-A (%)	IR-B (%)
<i>Cancro mammario</i>			
MCF-7	4.4	61	39
MDAMB-157	3.0	62	38
MDAMB-468	15.0	24	76
T-47D	0.2	44	56
<i>Leiomioma</i>			
MESSA	1.08	40	60
SK-LMS-1	0.9	70	30
SKUT-1	4.3	96	0.4
<i>Rhabdomyosarcoma</i>			
A204	1.2	65	35
RD	0.2	100	0
SJRH-30	1.1	100	0

Contenuto di IR misurato tramite ELISA. IR-A e IR-B misurati tramite RT-PCR. Modificata da (22) e da (35).

ANALOGHI DELL'INSULINA E CANCRO

L'insulina umana è stata modificata strutturalmente tramite tecnologia ricombinante e mutagenesi sito-specifica in modo da ottenere analoghi che vengono assorbiti più rapidamente o più lentamente per rendere la loro azione quanto più vicina alla secrezione fisiologica. Per evitare di alterare l'affinità di legame per il recettore dell'insulina, tali molecole sono state modificate prevalentemente nella porzione COOH-terminale della catena B dell'insulina, regione importante per la formazione dei dimeri ma non coinvolta nel legame con IR (36-38). Tuttavia, questa regione dell'insulina è importante per l'affinità di legame con IGF-1R (37). Inoltre, le modifiche strutturali dell'insulina possono aumentarne l'effetto mitogeno per alterazioni dell'interazione con IR in termini di tempo di permanenza e di attivazione del segnale intracellulare. Va anche ricordato che gli effetti dell'insulina possono essere amplificati in caso di iperespressione del recettore insulinico come si verifica in molti tipi di cancro. Infine, la presenza di IR in due isoforme non esclude che possano essere stimulate dagli analoghi dell'insulina in maniera diversa. Studi che valutano l'interazione degli analoghi dell'insulina con le due isoforme di IR sono difficili da realizzare, perché la maggior parte delle cellule le esprime entrambe. Per superare tale problema alcuni studi sono stati effettuati *in vitro* in modelli ingegnerizzati che esprimono solo un tipo di isoforma (IR-A o IR-B) (13) (Tab. 3) o in cellule maligne che esprimono prevalentemente solo un tipo di isoforma (22). Molto opportunamente, gli analoghi dell'insulina, prima di essere approvati per uso clinico, sono testati anche *in vivo* negli animali per valutarne la capacità proliferativa e trasformante. In atto sono disponibili nella pratica clinica analoghi dell'insulina ad azione rapida (lispro, aspart, glulisina), utilizzati per i pasti, e analoghi ad azione prolungata (glargine, detemir, degludec, icodec), utilizzati come insulina basale. Studi *in vitro* in linee cellulari trasfettate in modo da esprimere un solo tipo di isoforma di IR o IGF-1R indicano che tutti gli analoghi ad azione rapida legano IR e IGF-1R con affinità simile all'insulina nativa (13). I dati sulla fosforilazione di IR sono pochi e difficili da paragonare a causa dei diversi modelli cellulari e delle eterogenee condizioni sperimentali utilizzate. Negli studi in cui gli analoghi dell'insulina sono stati utilizzati nello stesso modello cellulare, è stato osservato che la fosforilazione di entrambe le isoforme di IR e di IGF-1R è attivata dai tre analoghi ad azione rapida in maniera simile all'insulina nativa (13). Anche l'attivazione del segnale intracellulare sia di Extracellular-Signaling-Regulated Kinase (ERK) che di Protein Kinase B (PKB/AKT), è simile tra gli analoghi ad azione rapida e l'insulina nativa (13). In un modello ingegnerizzato in cui è iperespresso solo IGF-1R, tutti e tre gli analoghi ad azione rapida legano IGF-1R con affinità simile a quella dell'insulina nativa (13). L'effetto mitogeno degli analoghi dell'insulina è stato studiato anche in linee cellulari di cancro. Con le dovute riserve per i modelli cellulari *in vitro*, in diversi studi i risultati sono stati comunque simili. Gli analoghi ad azione rapida stimolano la proliferazione di cellule di cancro in maniera simile all'insulina nativa (22, 39-41). La valutazione del potenziale rischio di cancro per gli analoghi dell'insulina ad azione prolungata impiegati nella pratica clinica ha riguardato prevalentemente l'insulina glargine, perché disponibile da più tempo, mentre solo pochi studi hanno preso in considerazione l'analogo detemir e l'insulina degludec e, a mia conoscenza, nessuno per quanto riguarda l'insulina icodec, ultima arrivata in ordine di tempo. Tuttavia, per quanto riguarda l'insulina icodec studi *in vitro* su cellule hanno dimostrato che attiva le vie intracellulari di IR in modo dose-dipendente e simile a

Tabella 3 ♦ Affinità di legame di insulina, IGF-I e analoghi dell'insulina per le isoforme IR-A e IR-B

	EC50 DEL LIGANDO (nM)							
	INSULINA	IGF-I	B10 ASP	ASPART	LISPRO	GLULISINE	GLARGINE	DETEMIR
R-/IR-A	0.40±0.10	68.1 ^b ±6.10	0.27 ^a ±0.10	0.60±0.15	0.43±0.15	0.61±0.03	0.93 ^a ±0.17	0.90 ^a ±0.26
R-/IR-B	0.49±0.05	>100	0.20 ^a ±0.01	0.70±0.25	0.54±0.11	0.74±0.25	0.58±0.31	14.01 ^b ±1.83

I dati rappresentano la media ± deviazione standard di tre esperimenti indipendenti.
EC50: concentrazione efficace del 50% (analisi di Scatchard).
Test t di Student per valori appaiati: ^ap< 0.05 and ^bp< 0.01 rispetto all'insulina. Modificata da (13).

quelle dell'insulina umana nativa (42). In un modello cellulare ingegnerizzato esprime solo IR-A, o IR-B, o IGF-1R, sia glargine che detemir aumentano, rispetto ad insulina nativa, l'attivazione di ERK, mentre l'attivazione di AKT è simile a quella dell'insulina nativa. In particolare, tramite IR-A glargine e detemir attivano AKT in maniera simile all'insulina nativa, ma ERK significativamente più dell'insulina nativa. Tramite IR-B entrambi gli analoghi ad azione prolungata attivano AKT meno dell'insulina nativa ed ERK in maniera simile all'insulina nativa (13). Bisogna dire che glargine, iniettata nel tessuto sottocutaneo, subisce una degradazione proteolitica con formazione di due molecole M1 e M2 metabolicamente attive che hanno una affinità per IGF-1R e una potenza mitogena minore dell'insulina nativa (43). Inoltre, M1 e M2 attivano la via metabolica e la via mitogena di IR in maniera simile a quella dell'insulina nativa. Non sorprende che per quanto riguarda l'effetto degli analoghi dell'insulina in cellule di cancro gli studi possano dare risultati contrastanti. Ciò può essere spiegato dai diversi modelli e dalle diverse condizioni sperimentali utilizzate. A tal proposito, nel nostro laboratorio abbiamo dimostrato che l'insulina nativa e i suoi analoghi stimolano la proliferazione cellulare di diverse linee cellulari di cancro mammario in maniera differente. La proliferazione cellulare è maggiore quando IR, e in particolare IR-A, sono iperespressi. Tuttavia, la correlazione non è lineare e vari fattori possono influenzarla (22). Gli analoghi glargine e detemir, rispetto ad insulina nativa, aumentano in maniera significativa la crescita di una linea cellulare di cancro mammario (MDAMB-157). Invece, in tutte e quattro le linee di cancro mammario studiate (MCF-7, MDAMB-157, MDAMB-468, T-47D) detemir è significativamente più efficace a stimolare l'invasione cellulare, mentre M1 e M2 hanno effetti simili all'insulina nativa. Infine, nelle linee cellulari studiate gli effetti sulla proliferazione e sull'invasione cellulare non sono risultati correlati (22). L'insieme di questi dati suggerisce che la risposta delle cellule maligne agli analoghi dell'insulina è specifica per ogni tipo cellulare e può dipendere dalla combinazione di più fattori non sempre noti.

I dati riguardanti le interazioni di degludec con IR e IGF-1R sono limitati. L'affinità di degludec per IR è simile ad insulina nativa, mentre l'affinità per IGF-1R è minore dell'insulina nativa (44). La problematica di un aumentato rischio di cancro in pazienti trattati con l'analogo ad azione prolungata glargine è stata sollevata da una serie di studi retrospettivi e osservazionali di registri nazionali pubblicati nel 2009 (45-47). Tuttavia, gli studi non giungevano a risultati concordanti. Da allora diversi studi osservazionali e meta-analisi sono stati pubblicati. Gli studi osservazionali presentano importanti lacune metodologiche che ne limitano le conclusioni. Comunque, allo stato attuale non è stata trovata correlazione tra uso di analoghi dell'insulina ad azione prolungata (detemir e glargine) e rischio aumentato di cancro (48-50).

CONCLUSIONI

Le isoforme di IR sono iperesprese in molti tipi di tumore e il rapporto IR-A/IR-B nella maggior parte dei casi è a favore di IR-A. IR-A si lega all'IGF-II con elevata affinità. Sia le cellule tumorali che quelle stromali producono IGF-II e quindi IR-A, oltre ad IGF-1R, media gli effetti mitogenici e antiapoptotici di IGF-II. Inoltre, le isoforme di IR possono formare recettori ibridi tra di loro e con IGF-1R, determinando differenze nella segnalazione stimolata dai vari ligandi. Dopo il fallimento delle terapie anti-IGF-1R in alcuni tipi di cancro, il meccanismo autocrino/paracrino IR-A/IGF-II è stato ipotizzato come uno dei principali responsabili della resistenza a tali terapie. Il ruolo delle isoforme IR nel contesto clinico del cancro non è ancora stato definito completamente e merita ulteriori studi. È necessario definire nuove strategie terapeutiche antitumorali per un approccio terapeutico innovativo che includa l'inibizione dell'iperespressione di IR-A e dell'aumentato rapporto IR-A/IR-B e IR-A/IGF-1R nelle cellule tumorali.

Per quanto riguarda il rischio di cancro nei pazienti con diabete trattati con analoghi dell'insulina a lunga durata d'azione in atto non sono disponibili studi prospettici, difficili da progettare a causa dell'eterogeneità della popolazione con diabete e dei tanti fattori confondenti, e anche molto improbabili da realizzare nel prossimo futuro. Pertanto, la scelta del trattamento dovrebbe essere personalizzata e basata sull'obiettivo di mantenere un buon controllo glicemico. Il potenziale rischio di cancro correlato all'iperinsulinemia dovrebbe essere un'ulteriore motivazione per ridurre l'insulino-resistenza attraverso uno stile di vita sano o un intervento farmacologico volto a ridurre il fabbisogno di insulina/analoghi.

In conclusione, è evidente la complessità della funzione del recettore dell'insulina e dei segnali da esso attivati. Il recettore insulinico, infatti, non solo regola i ben noti effetti metabolici ma media anche effetti mitogeni.

BIBLIOGRAFIA

1. Müssig K, Häring HU. Insulin signal transduction in normal cells and its role in carcinogenesis. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2010; 118(6):356-359.
2. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawatr T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest*. 2000; 105(3):311-320.
3. Vigneri R, Sciacca L, Vigneri P. Rethinking the Relationship between Insulin and Cancer. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2020; 31(8):551-560.
4. Belfiore A, Malaguarnera R, Vella V, Lawrence MC, Sciacca L, Frasca F, et al. Insulin receptor isoforms in physiology and disease: An updated view. *Endocr Rev*. 2017; 38(5):379-431.
5. Vella V, Milluzzo A, Scalisi NM, Vigneri P, Sciacca L. Insulin receptor isoforms in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(11):3615.
6. Sen S, Talukdar I, Webster NJG. SRp20 and CUG-BP1 Modulate Insulin Receptor Exon 11 Alternative Splicing. *Mol Cell Biol*. 2009; 29(3):871-880.
7. Frasca F, Pandini G, Scalia P, Sciacca L, Mineo R, Costantino A, et al. Insulin receptor isoform A, a newly recognized, high-affinity insulin-like growth factor II receptor in fetal and cancer cells. *Mol Cell Biol*. 1999; 19(5):3278-3288.
8. Kalli KR, Falowo OI, Bale LK, Zschunke MA, Roche PC, Conover CA. Functional insulin receptors on human epithelial ovarian carcinoma cells: Implications for IGF-II mitogenic signaling. *Endocrinology*. 2002; 43(9):3259-3267.
9. Vella V, Pandini G, Sciacca L, Mineo R, Vigneri R, Pezzino V, et al. A novel autocrine loop involving IGF-II and the insulin receptor isoform-A stimulates growth of thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(1):245-254.
10. Sciacca L, Costantino A, Pandini G, Mineo R, Frasca F, Scalia P, et al. Insulin receptor activation by IGF-II in breast cancers: Evidence for a new autocrine/paracrine mechanism. *Oncogene*. 1999; 18(15):2471-2479.
11. Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocr Rev*. 2009; 30(6):586-623.
12. Denley A, Wallace JC, Cosgrove LJ, Forbes BE. The Insulin Receptor Isoform Exon 11- (IR-A) in Cancer and Other Diseases: A Review. *Hormone and Metabolic Research*. 2003; 35(11-12):778-785.
13. Sciacca L, Cassarino MF, Genua M, Pandini G, Le Moli R, Squatrito S, et al. Insulin analogues differently activate insulin receptor isoforms and post-receptor signalling. *Diabetologia*. 2010; 53(8):1743-1753.
14. Yamaguchi Y, Flier JS, Benecke H, Ransil BJ, Moller DE. Ligand-binding properties of the two isoforms of the human insulin receptor. *Endocrinology*. 1993; 132(3):1132-1138.
15. Sacco A, Morcavallo A, Pandini G, Vigneri R, Belfiore A. Differential signaling activation by insulin and insulin-like growth factors I and II upon binding to insulin receptor isoform A. *Endocrinology*. 2009; 50(8):3594-3602.
16. Massimino M, Sciacca L, Parrinello NL, Scalisi NM, Belfiore A, Vigneri R, et al. Insulin receptor isoforms differently regulate cell proliferation and apoptosis in the ligand-occupied and unoccupied state. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(16):8729.
17. Tumminia A, Scalisi NM, Milluzzo A, Ettore G, Vigneri R, Sciacca L. Maternal Diabetes Impairs Insulin and IGF-1 Receptor Expression and Signaling in Human Placenta. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12:621680.
18. Avnet S, Perut F, Salerno M, Sciacca L, Baldini N. Insulin receptor isoforms are differently expressed during human osteoblastogenesis. *Differentiation*. 2012; 83(5):242-248.
19. Papa V, Pezzino V, Costantino A, Belfiore A, Giuffrida D, Frittitta L, et al. Elevated insulin receptor content in human breast cancer. *J Clin Invest*. 1990; 86(5):1503-1510.
20. Mathieu MC, Clark GM, Allred DC, Goldfine ID, Vigneri R. Insulin receptor expression and clinical outcome in node-negative breast cancer. *Proc Assoc Am Physicians*. 1997; 109(6):565-571.
21. Chieffari E, Mirabelli M, La Vignera S, Tanyolaç S, Foti DP, Aversa A, et al. Insulin resistance and cancer: In search for a causal link. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(20):11137.

22. Sciacca L, Cassarino MF, Genua M, Vigneri P, Giovanna Pennisi M, Malandrino P, et al. Biological Effects of Insulin and Its Analogs on Cancer Cells With Different Insulin Family Receptor Expression. *J Cell Physiol.* 2014; 229(11):1817-1821.
23. Sciacca L, Vigneri R, Tumminia A, Frasca F, Squatrito S, Frittitta L, et al. Clinical and molecular mechanisms favoring cancer initiation and progression in diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013; 23(9):808-815.
24. Aljada A, Saleh AM, Al-Aqeel SM, Shamsa HB, Al-Bawab A, AlDubayee M, et al. Quantification of insulin receptor mRNA splice variants as a diagnostic tumor marker in breast cancer. *Cancer Biomarkers.* 2015; 15(5):653-661.
25. Huang J, Morehouse C, Streicher K, Higgs BW, Gao J, Czapiga M, et al. Altered expression of Insulin receptor isoforms in breast cancer. *PLoS One.* 2011; 6(10):e26177.
26. Harrington SC, Weroha SJ, Reynolds C, Suman VJ, Lingle WL, Haluska P. Quantifying insulin receptor isoform expression in FFPE breast tumors. *Growth Horm IGF Res.* 2012; 22(3-4):108-115.
27. Björner S, Rosendahl AH, Simonsson M, Markkula A, Jirström K, Borgquist S, et al. Combined and individual tumor-specific expression of insulinlike growth factor-I receptor, insulin receptor and phosphoinsulin-like growth factor-I receptor/insulin receptor in primary breast cancer: Implications for prognosis in different treatment groups. *Oncotarget.* 2017; 8(6):9093-9107.
28. Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V, Squatrito S, Belfiore A, et al. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem.* 2008; 114(1):23-37.
29. Vella V, Sciacca L, Pandini G, Mineo R, Squatrito S, Vigneri R, et al. The IGF system in thyroid cancer: New concepts. *J Clin Pathol - Mol Pathol.* 2001; 54(3):121-124.
30. Frittitta L, Sciacca L, Catalfamo R, Ippolito A, Gangemi P, Pezzino V, et al. Functional insulin receptors are overexpressed in thyroid tumors: Is this an early event in thyroid tumorigenesis? *Cancer.* 1999; 85(2):492-498.
31. Vella V, Puppini C, Damante G, Vigneri R, Sanfilippo M, Vigneri P, et al. $\Delta Np73\alpha$ inhibits PTEN expression in thyroid cancer cells. *Int J Cancer.* 2009; 124(11):2539-2548.
32. Malaguarnera R, Frasca F, Garozzo A, Giani F, Pandini G, Vella V, et al. Insulin receptor isoforms and insulin-like growth factor receptor in human follicular cell precursors from papillary thyroid cancer and normal thyroid. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(3):766-774.
33. Avnet S, Sciacca L, Salerno M, Gancitano G, Cassarino MF, Longhi A, et al. Insulin receptor isoform a and insulin-Like growth factor II as additional treatment targets in human osteosarcoma. *Cancer Res.* 2009; 69(6):2443-2452.
34. Diaz LE, Chuan YC, Lewitt M, Fernandez-Perez L, Carrasco-Rodríguez S, Sanchez-Gomez M, et al. IGF-II regulates metastatic properties of choriocarcinoma cells through the activation of the insulin receptor. *Mol Hum Reprod.* 2007; 13(8):567-576.
35. Sciacca L, Mineo R, Pandini G, Murabito A, Vigneri R, Belfiore A. In IGF-I receptor-deficient leiomyosarcoma cells autocrine IGF-II induces cell invasion and protection from apoptosis via the insulin receptor isoform A. *Oncogene.* 2002; 21(54):8240-8250.
36. Mynarcik DC, Williams PF, Schaffer L, Yu GQ, Whittaker J. Identification of common ligand binding determinants of the insulin and insulin-like growth factor 1 receptors. Insights into mechanisms of ligand binding. *J Biol Chem.* 1997; 272(30):18650-18655.
37. Slieker LJ, Brooke GS, Dimarchi RD, Flora DB, Green LK, Hoffmann JA, et al. Modifications in the B10 and B26-30 regions of the B chain of human insulin alter affinity for the human IGF-I receptor more than for the insulin receptor. In: *Diabetologia.* 1997; 40(Suppl 2):S54-61.
38. Brange J, Ribel U, Hansen JE, Dodson G, Hansen MT, Havelund S, et al. Monomeric insulins obtained by protein engineering and their medical implications. *Nature.* 1988; 333(6174):679-682.
39. Kurtzhals P, Schäffer L, Sørensen A, Kristensen C, Jonassen I, Schmid C, et al. Correlations of receptor binding and metabolic and mitogenic potencies of insulin analogs designed for clinical use. *Diabetes.* 2000; 49(6):999-1005.
40. Shukla A, Crisouard J, Ehemann V, Hermani A, Enzmann H, Mayer D. Analysis of signaling pathways related to cell proliferation stimulated by insulin analogs in human mammary epithelial cell lines. *Endocr Relat Cancer.* 2009; 16(2):429-441.

41. Sciacca L, Le Moli R, Vigneri R. Insulin analogs and cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012; 3:21.
42. Nishimura E, Pridal L, Glendorf T, Hansen BF, Hubálek F, Kjeldsen T, et al. Molecular and pharmacological characterization of insulin icodec: A new basal insulin analog designed for once-weekly dosing. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2021; 9(1):e002301.
43. Sommerfeld MR, Müller G, Tschank G, Seipke G, Habermann P, Kurrle R, et al. In vitro metabolic and mitogenic signaling of insulin glargine and its metabolites. *PLoS One*. 2010; 5(3):e9540.
44. Nasrallah SN, Raymond Reynolds L. Insulin degludec, the new generation basal insulin or just another basal insulin? *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*. 2012; 5:31-37.
45. Hemkens LG, Grouven U, Bender R, Günster C, Gutschmidt S, Selke GW, et al. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: A cohort study. *Diabetologia*. 2009; 52(9):1732-1744.
46. Jonasson JM, Ljung R, Talbäck M, Haglund B, Gudbjörnsdóttir S, Steineck G. Insulin glargine use and short-term incidence of malignancies-a population-based follow-up study in Sweden. *Diabetologia*. 2009; 52(9):1745-1754.
47. Colhoun HM. Use of insulin glargine and cancer incidence in Scotland: A study from the Scottish Diabetes Research Network Epidemiology Group. *Diabetologia*. 2009; 52(9):1755-1765.
48. Bradley MC, Chillarige Y, Lee H, Wu X, Parulekar S, Wernecke M, et al. Similar breast cancer risk in women older than 65 years initiating glargine, detemir, and NPH insulins. *Diabetes Care*. 2020; 43(4):785-792.
49. Wu JW, Filion KB, Azoulay L, Doll MK, Suissa S. Effect of long-acting insulin analogs on the risk of cancer: A systematic review of observational studies. *Diabetes Care*. 2016; 39(3):486-494.
50. Sciacca L, Vella V, Frittitta L, Tumminia A, Manzella L, Squatrito S, et al. Long-acting insulin analogs and cancer. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018; 28(5):436-443.