Consiglio di Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale – all. 14/a

PROPOSTA PROGETTO DIPARTIMENTI DI ECCELLENZA

TITOLO DEL PROGETTO:

FISIOPATOLOGIA DEL TESSUTO ADIPOSO NELL'OBESITÀ E NELLA SINDROME METABOLICA

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA’ PROGETTUALI

1. Introduzione

L'obesità è un fattore di rischio globale per la salute, annualmente responsabile di oltre 2,8 milioni di decessi, con prevalenza quasi raddoppiata negli ultimi trenta anni. Tale condizione è correlata all’insorgenza di malattie metaboliche, tra cui diabete di tipo 2, dislipidemie, aterosclerosi e ipertensione arteriosa, componenti principali della Sindrome Metabolica (SM). Il tessuto adiposo gioca un ruolo chiave nella patogenesi dell'obesità e delle complicanze associate. Il tessuto adiposo bianco (WAT) è il principale organo di accumulo dell'eccesso di energia, sotto forma di trigliceridi (TG). Esso si comporta come un vero e proprio organo endocrino, rilasciando in circolo un’ingente gamma di adipochine, coinvolte nella regolazione di molteplici funzioni fisiologiche, tra cui il peso corporeo, il metabolismo vascolare, il metabolismo del glucosio e la sensibilità all'insulina, nonchè citochine infiammatorie e

chemochine. Pertanto, il WAT risulta essere pienamente integrato in un “cross-talk” globale, riguardante l’interazione funzionale di molteplici organi, coinvolti nell'omeostasi energetica, tra cui il sistema nervoso centrale, il fegato, il muscolo scheletrico e il pancreas.

Il WAT è variamente distribuito in differenti distretti corporei, tra cui quello addominale, sottocutaneo, gonadico, caratterizzati da specifici profili secretori di adipochine. L'accumulo di tessuto adiposo, a livello viscerale (VAT), rappresenta un prominente fattore di rischio per l’insorgenza di SM, a causa della sua contiguità con organi vitali. Inoltre, il VAT è caratterizzato da un maggiore livello di attività metabolica, rispetto ad altri depositi di adipe. L'ipertrofia e l’iperplasia degli adipociti, in risposta all’accumulo dell'eccessivo apporto energetico, è causa di un alterato pattern secretorio, con conseguente aumento della secrezione di adipochine, pro-infiammatorie, citochine e chemochine (MCP-1, leptina, IL-6 e TNF-) e ridotta produzione di adipochine antinfiammatorie, tra cui l'adiponectina. Così, nel tessuto adiposo ipertrofico si manifesta una progressiva infiltrazione e attivazione di macrofagi e linfociti T, quale conseguenza della secrezione di elevati livelli di MCP-1. Inoltre, nel WAT degli obesi si assiste a una trasformazione dei macrofagi dal fenotipo antinfiammatorio M2 al fenotipo pro-infiammatorio M1, parimenti responsabile dell’insorgenza di uno stato infiammatorio. Sebbene, inizialmente, tutti questi processi infiammatori riguardino il tessuto adiposo, successivamente può derivarne un'infiammazione sistemica cronica, che colpisce diversi tessuti, come quello epatico e muscolo-scheletrico e causa disturbi metabolici, tra cui insulino-resistenza (IR) o steatosi epatica non alcolica. Pertanto, la modulazione dei processi di produzione/rilascio di molecole pro-/anti-infiammatorie dal tessuto adiposo rappresenta un obiettivo importante per evitare o alleviare l'infiammazione sistemica e per ridurre lo sviluppo di comorbilità associate all'obesità, come il diabete di tipo 2 o la dislipidemia.

Gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga n-3 (n-3 PUFA) sono nutrienti essenziali, derivati da fonti marine o vegetali, come l’acido eicosapentaenoico (EPA) e l’acido docosaesaenoico (DHA), abbondanti nei pesci grassi. Gli n-3 PUFA sono in grado di migliorare il metabolismo compromesso nell'obesità, modulando le principali vie metaboliche presenti in organi chiave, come tessuto adiposo, fegato e muscolo scheletrico.

Nel modello dietetico, ispirato alla dieta mediterranea, i nutrienti di origine grassa e non manifestano importanti attività antinfiammatorie, influenzando la cascata dell'acido arachidonico, l'espressione di alcuni geni pro-infiammatori e l’attività delle cellule immunitarie. In particolare, gli n-3 PUFA influiscono sulle funzioni dei linfociti e dei monociti, coinvolti in modo cruciale nell'immunità adattativa e innata.

1. Attività progettuali

Le attività progettuali previste riguarderanno l’adozione di modelli *in vitro* e *in vivo* (modelli animali di obesità) per lo studio degli effetti dell'integrazione alimentare degli *n-3 PUFA,* di origine marina, sulle caratteristiche dell’adiposità e della Sindrome Metabolica (SM), con particolare riguardo agli effetti attesi sulla riduzione del peso corporeo e della massa grassa, dei livelli di trigliceridi (TG) e sugli effetti favorevoli dell'integrazione alimentare sul metabolismo del glucosio e sulla sensibilità all'insulina. Inoltre, saranno condotti studi clinici sull'obesità e sulla SM per scoprire i potenziali benefici dell'integrazione degli *n-3 PUFA* in soggetti obesi e/o affetti da SM, intesi a verificarne gli effetti sul peso, sulla ripartizione della composizione corporea e sul metabolismo lipidico. In dettaglio, saranno sviluppate le sottoelencate linee di ricerca.

1. ***Effetti sulla proliferazione e differenziazione degli adipociti***. Sarà studiata la regolazione della differenziazione degli adipociti, a partire da cellule staminali mesenchimali, da parte degli *n-3 PUFA,* di origine marina, incentrando l’attenzione sul ruolo degli *n-3 PUFA* nella regolazione dell'apoptosi degli adipociti.
2. ***Effetti sull’accumulo e sulla mobilizzazione dei lipidi***. Gli *n-3 PUFA* saranno utilizzati come modulatori enzimatici, in grado di regolare la lipogenesi nel tessuto adiposo bianco (*WAT)*, quale possibile strategia per combattere l'obesità e le condizioni predisponenti la comparsa del diabete. Infatti, questi acidi grassi orchestrano una modulazione di diversi enzimi coinvolti in percorsi metabolici responsabili dell’accumulo e della degradazione dei TG, facilitandone la riduzione dell'accumulo nel tessuto adiposo.
3. ***Effetti sul metabolismo del glucosio e sul “signaling” di insulina***. Sarà investigata la possibile relazione tra l'espansione disfunzionale del *WAT* nell'obesità e la concomitante mobilitazione delle cellule immunitarie, quale evento determinante nell'attivazione di cascate infiammatorie che hanno un impatto negativo sulla cascata di “segnale” dell'insulina e sull'assorbimento del glucosio, responsabili dello sviluppo di IR.
4. ***Effetti sulla produzione di leptina***. Sarà investigato il ruolo della *leptina* nella regolazione del peso corporeo, assumendo che la carenza di *leptina* provochi grave iperfagia e obesità precoce. In particolare, attenzione sarà riposta al ruolo svolto dagli elevati livelli di l*eptina*, conseguenza comune dell'obesità nell'uomo e nei roditori, quale possibile evento promotore di un processo di resistenza, coinvolto nel disturbo della regolazione del peso corporeo.
5. ***Valutazione degli aspetti morfologici e degli effetti sull'infiammazione del tessuto adiposo***. Sarà studiato il ruolo degli *n-3 PUFA,* di origine marina, nel migliorare l'infiammazione del tessuto adiposo nei roditori obesi e nell'uomo, attraverso la verifica dei principali meccanismi

proposti, a sostegno delle azioni antinfiammatorie degli *n-3 PUFA,* nel *WAT e nel tessuto adiposo viscerale (VAT*), in relazione: (i) alla riduzione della produzione di adipocitochine pro- infiammatorie e all’aumento del rilascio di adipocitochine anti-infiammatorie dal tessuto adiposo; (ii) alla riduzione dell'infiltrazione dei macrofagi; (iii) alla riduzione della formazione di mediatori lipidici pro-infiammatori derivati da *n-6 PUFA*; (iv) all’utilizzo, quali substrati, per la formazione di mediatori lipidici pro-risolutivi. In particolare, si valuteranno le caratteristiche morfologiche degli adipociti e dell’infiltrato macrofagico (distribuzione delle popolazioni M1 e M2) e linfocitario, oltre che l’espressione di MCP-1, VCAM, CSF-1 e TLR4. Inoltre, si procederà alla localizzazione dell’HMGB1, in relazione all’infiltrato macrofagico, e, parallelamente, alla localizzazione di recettori di proteine chemiotattiche e di adiponectina in corso di trattamento con n-3 PUFA.

1. ***Caratterizzazione di laboratorio e marcatori metabolici dei fluidi biologici****.* Nei succitati modelli *in vivo* saranno valutati gli effetti della supplementazione con *n-3 PUFA*, di origine marina, sui livelli ematici dei principali marcatori metabolici (glicidi, lipidi e composti azotati), mediante procedure di laboratorio quantitative validate. Inoltre, specifici profili metabolici saranno analizzati, mediante tecniche ifenate, già validate o da validare, per studiare il metabolismo degli acidi grassi, steroli, fosfolipidi, aminoacidi, e acilcarnitine nel siero/plasma e/o sangue intero. I risultati ottenuti assumeranno particolare importanza ai fini dell’integrazione con gli altri parametri già considerati e per l’interpretazione complessiva degli *outcomes*.
2. ***L'effetto della dieta e dell'esercizio fisico sui depositi di tessuto adiposo viscerale***. Saranno eseguite indagini antropometriche e di compartimentazione corporea per chiarire se gli interventi sullo stile di vita e sulla corretta alimentazione possano ridurre i depositi di *VAT* nei giovani in sovrappeso e obesi. Infatti, l'eccesso di *VAT,* in età evolutiva, è associato allo sviluppo di malattie cardiovascolari e metaboliche in età adulta. In particolare, sarà considerato il ruolo svolto dall’assunzione di *n-3 PUFA,* di origine marina, finalizzato alla validazione dei risultati ottenuti nei modelli animali e *in vitro*.
3. ***Obesità e microbioma***. Sarà indagato il possibile contributo dei microbi che colonizzano l'intestino umano allo sviluppo dell'obesità, attraverso il ruolo svolto nella disgregazione dei polisaccaridi, nell’assorbimento dei nutrienti, nelle risposte infiammatorie e nella permeabilità intestinale. In particolare, sarà riposta attenzione circa il ruolo delle diverse popolazioni microbiche intestinali nell'aumento di peso e nell'obesità e sui meccanismi sottostanti, al fine di affrontare trattamenti mirati.

OBIETTIVI INTERMEDI E FINALI DEL PROGETTO

I Ricercatori partecipanti a questo progetto attuativo del programma di sviluppo dipartimentale “Dipartimenti di Eccellenza”, hanno definito in modo condiviso, una griglia di indicatori di risultati intermedi, da utilizzare per il raggiungimento degli obiettivi intermedi e per il monitoraggio dell’effettivo raggiungimento, al fine di minimizzare il rischio di fallimento, abbandono e revoca del progetto.

1. Obiettivi intermedi del progetto

Il progetto sarà realizzato secondo le seguenti modalità, suddivise per obiettivi intermedi, adottando un crono-programma trimestrale.

1. ***Costituzione dei Gruppi di Ricerca***. I Ricercatori coinvolti nel Progetto prenderanno visione delle Linee di Ricerca costituenti le attività progettuali e, sulla base delle proprie conoscenze, competenze e abilità concorreranno a formare dei Gruppi di Ricerca focalizzati sulle specifiche linee di azione, con l’intento, ove possibile, di favorire integrazioni con altri Gruppi di Ricerca, coerentemente con l’indirizzo generale del progetto attuativo del programma di sviluppo dipartimentale “Dipartimenti di Eccellenza”. La realizzazione di questo obiettivo impegnerà il **1° trimestre** dall’inizio del programma di ricerca.
2. ***Attività finalizzate alla conoscenza del problema e all’organizzazione delle attività di ricerca****.* I Componenti dei Gruppi di Ricerca organizzeranno al proprio interno dei *Lab Meeting* e *Journal Club* con cadenza periodica, finalizzati alla discussione della letteratura scientifica, inerente la Linea di Ricerca adottata, onde acquisire un’aggiornata conoscenza dello stato dell’arte e definire protocolli sperimentali da adottare per dare inizio alla sperimentazione. Saranno, inoltre, individuate le strumentazioni scientifiche da utilizzare e gli spazi comuni necessari per ospitare il Personale addetto alla ricerca, definendo un calendario di utilizzo delle *Facilities*. In questa fase potrebbe rendersi necessario un periodo di formazione rivolto al Personale Tecnico coinvolto nell’utilizzo di specifiche strumentazioni, ovvero nell’adozione di metodologie d’analisi specificamente richieste dalla sperimentazione. Infine, in questa fase si procederà alla stesura della documentazione da inviare al locale Comitato Etico, per l’approvazione e, per ciò che riguarda la sperimentazione su animali, si procederà ad attivare tutte le procedure per la stabulazione e la manipolazione degli animali, in ossequio alla normativa vigente. La realizzazione di questi obiettivi impegnerà i primi **2 trimestri** dall’inizio del Programma di Ricerca.
3. ***Attività sperimentali***. Le attività sperimentali, coerenti con le Linee di Ricerca adottate, saranno svolte dai Partecipanti ai Gruppi di Ricerca, in accordo con i protocolli sperimentali elaborati. Ciascun Gruppo di Ricerca individuerà un proprio crono-programma per l’acquisizione dei dati, basandosi sulle differenti modalità di trattamento previste nei modelli *in vitro* e *in vivo* adottati. I Ricercatori che si avvarranno di sperimentazioni cliniche su pazienti provvederanno, in questa fase, al reclutamento del campione di popolazione, alla

valutazione clinica e alla somministrazione del trattamento, per il tempo di osservazione previsto dal protocollo clinico-sperimentale, acquisendo le misure e i campioni bioumorali, oggetto di analisi e monitoraggio, per tutta la durata della sperimentazione, compresa in un intervallo presumibile di 6-18 mesi. In considerazione della variabilità temporale delle differenti sperimentazioni, i Gruppi di Ricerca individueranno degli inter-tempi con cadenza trimestrale (**2-6 trimestri** a partire dall’inizio delle attività sperimentali), utili ai fini della rendicontazione dello stato di avanzamento della ricerca.

1. **Attività finalizzate alla verifica degli obiettivi e alla formalizzazione dei risultati**. In questa fase, ciascun Gruppo di Ricerca, procederà alla verifica dei propri obiettivi di ricerca dichiarati e procederà, attraverso una fase di riesame, all’individuazione delle eventuali criticità emerse e alla definizione di variazioni dei protocolli sperimentali adottati, utili ai fini del raggiungimento degli *outcomes* indicati, ovvero, alla ridefinizione di differenti *outcomes*, coerentemente con i risultati conseguiti. La formalizzazione dei risultati, conseguente all’elaborazione statistica degli stessi, consentirà a quei Gruppi di Ricerca che abbiano inteso collaborare su attività di ricerca comuni, condividendo le rispettive *expertises,* di complementare i risultati ottenuti, integrando le personali esperienze in una visione olistica del problema scientifico affrontato. La realizzazione degli obiettivi previsti in questa fase impegnerà gli ultimi **2 trimestri** dall’inizio del Programma di Ricerca.
2. Obiettivi finali del progetto

Coerentemente con quanto dichiarato, quale finalità generale del progetto, inteso a individuare eventuali effetti benefici, indotti sul metabolismo compromesso nell'obesità, della somministrazione di *n-3 PUFA*, con specifico riguardo sulla modulazione delle principali vie metaboliche presenti in organi chiave, come tessuto adiposo, fegato e muscolo scheletrico, nonché dell’influenza da essi svolta sulle funzioni dei linfociti e dei monociti, coinvolti in modo cruciale nell'immunità adattativa e innata, gli obiettivi finali del progetto riguardano la definizione del ruolo degli *n-3 PUFA:* (***i***) nella proliferazione e differenziazione degli adipociti,

(***ii***) nell’accumulo e mobilizzazione dei lipidi, (***iii***) nel metabolismo del glucosio e nel “signaling” dell’insulina, (***iv***) nella produzione di leptina, (***v***) nella valutazione degli aspetti morfologici e degli effetti sull'infiammazione del tessuto adiposo, (***vi***) nella caratterizzazione di laboratorio dei marcatori metabolici dei fluidi biologici, (***vii***) nell'effetto della dieta e dell'esercizio fisico sui depositi di tessuto adiposo viscerale, sulla rappresentazione dell’immagine corporea, sulle attitudini e i comportamenti alimentari e, infine, (***viii***) nell’alterazione del microbioma del paziente obeso. L’effetto della supplementazione di *n-3 PUFA* nella dieta, nel modello *in vivo* (sull’animale e sull’uomo), ovvero del trattamento, *in vitro*, con *n-3 PUFA*, consentirà di elaborare un modello integrato per la comprensione della fisiopatologia dell’obesità e delle comorbilità a questa riferibili, caratterizzanti l’insorgenza della SM. Gli obiettivi finali del progetto esiteranno nell’attività di pubblicazione e

comunicazione dei risultati conseguiti e nello sviluppo delle sperimentazioni attuate, quale presupposto per future attività progettuali, nell’ambito del programma di sviluppo dipartimentale “Dipartimenti di Eccellenza”.

INDICATORI PER LA VERIFICA DEL RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI INTERMEDI E FINALI

,

Di seguito, sono elencati gli indicatori per la verifica del raggiungimento degli obiettivi intermedi e finali, da utilizzare per il raggiungimento degli obiettivi intermedi e per il monitoraggio dell’effettivo raggiungimento, al fine di minimizzare il rischio di fallimento, abbandono e revoca del progetto.

1. Pubblicazione di articoli su riviste scientifiche internazionali peer-review.
2. Presentazione dei risultati ottenuti a congressi nazionali ed internazionali.
3. Organizzazione di un seminario dipartimentale e di un seminario interdipartimentale per la presentazione dei risultati ottenuti.
4. Partecipazione ad attività di valorizzazione della ricerca e di terza missione al fine di diffondere i risultati ottenuti.

COMPONENTI DEL GRUPPO DI RICERCA

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Nome | Inquadramento universitario | Ruolo/attività progettuale |
| 1 | CIBELLI Giuseppe | Professore Ordinario (SSD BIO/09) | Coordinamento scientifico; aspetti funzionali relativi all’esercizio fisico, alla  nutrizione |
| 2 | MESSINA Giovanni | Professore Associato (SSD BIO/09) | Ricercatore; aspetti funzionali relativi all’esercizio fisico, alla nutrizione e al ruolo dei neuropeptidi nella regolazione della  fame/sazietà |
| 3 | PETITO Annamaria | Ricercatore (SSD M-PSI/08) | Ricercatore; comportamento  alimentare e stili di vita attivi |

4

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 4 | MAFFIONE Angela Bruna | Professore Associato (SSD BIO/16 | Ricercatore; aspetti morfo-  funzionali del tessuto adiposo |
| 5 | CORSO Gaetano | Professore Ordinario (SSD BIO/12 | Ricercatore;  proteomica/metabolomica dell’obesità |
| 6 | PAOLILLO Carmela | Ricercatore T.D.A (SSD BIO/12) | Ricercatore; proteomica/metabolomica  dell’obesità |
| 7 | TRABACE Luigia | Professore Ordinario (SSD BIO14) | Ricercatore; valutazione aspetti morfologici ed effetti sull'infiammazione del tessuto adiposo; caratterizzazione di laboratorio e marcatori  metabolici dei fluidi biologici. |
| 8 | TUCCI Paolo | Ricercatore (SSD BIO14) | Ricercatore; valutazione aspetti morfologici ed effetti sull'infiammazione del tessuto adiposo; caratterizzazione di laboratorio e marcatori  metabolici dei fluidi biologici. |
| 9 | SCHIAVONE Stefania | Ricercatore T. D. B (SSD BIO14) | Ricercatore; valutazione aspetti morfologici ed effetti sull'infiammazione del tessuto adiposo; caratterizzazione di laboratorio e marcatori  metabolici dei fluidi biologici. |
| 10 | GIARDINO Ida | Professore Associato (SSD MED/46) | Ricercatore; biologia molecolare e signaling  intracellulare dell’insulina |
| 11 | ANTONUCCI Laura | Ricercatore  (SSD SECS-P/07) | Ricercatore; comportamento  alimentare e stili di vita attivi |
| 12 | SIMONETTI Cristiana | Ricercatore  (SSD M-PED/01) | Ricercatore; comportamento  alimentare e stili di vita attivi |