

LE ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I REGOLANO L'ACETILAZIONE DI REGIONI "ENHANCER" COINVOLTE NELLA DETERMINAZIONE DEL FENOTIPO METABOLICO DEL TESSUTO ADIPOSO

A. Ferrari, R. Longo, E. Fiorino, D. Porro, S. Barilla, U. Guerrini, M. Crestani

Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

INTRODUZIONE e RISULTATI PRELIMINARI: Le istone deacetilasi (HDAC) sono regolatori epigenetici coinvolti nell'omeostasi metabolica. Il nostro laboratorio ha dimostrato che l'inibizione selettiva delle HDAC di classe I migliora il fenotipo obeso e diabetico in un modello murino di obesità indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi (HFD, 60% di calorie da grassi). In topi HFD trattati con l'inibitore selettivo delle HDAC di classe I MS-275 abbiamo osservato una riduzione del 10% del peso corporeo e una migliore capacità di rimuovere il glucosio dal circolo. L'analisi istologica del tessuto adiposo bianco (WAT) sottocutaneo e viscerale ha mostrato, una significativa riduzione della dimensione cellulare. L'analisi di espressione genica ha evidenziato un aumento statisticamente significativo dei geni marker di funzionalità adipocitaria (Pparg, Fabp4, Glut4, Adipoq) e del marker di tessuto adiposo bruno (BAT) Ucp1, suggerendo un effetto di "browning" del WAT in risposta all'inibizione delle HDAC di classe I.

SCOPO: Alla luce dei risultati ottenuti in vivo, lo scopo del lavoro è stato investigare il meccanismo tramite il quale MS-275 esercita i propri effetti nel WAT.

RISULTATI: Esperimenti in vitro in un modello di preadipociti (C3H10T1/2) hanno dimostrato che cellule differenziate in presenza di MS-275 mostrano, a fine differenziamento, un'aumentata espressione di Pparg, il principale regolatore del differenziamento adipocitario, e dei suoi principali target (Fabp4, Glut4, Adipoq, Cebpa); il trattamento con MS275 solo nei primi 3 giorni di differenziamento, inoltre, è risultato sufficiente per aumentare l'espressione dei geni sopracitati, suggerendo che l'inibizione delle HDAC di classe I nelle prime fasi del differenziamento adipocitario è sufficiente per riprogrammare il destino dei preadipociti verso un fenotipo più funzionale. Gli esperimenti condotti in questo modello cellulare hanno inoltre confermato che MS-275 induce "browning": determina, infatti, un aumento significativo (6 volte) dell'espressione di Ucp1. Esperimenti di immunoprecipitazione della cromatina in cellule C3H10T1/2 hanno confermato che tra i principali target delle HDAC di classe I si annoverano Pparg ed Ucp1: il trattamento con MS-275 aumenta i livelli acetilazione della lisina 27 dell'istone H3 (modificazione attivante) in corrispondenza di regioni "enhancers" di questi geni, determinando conseguentemente un aumento della trascrizione genica. La domanda che ci siamo posti è stata quindi quale HDAC di classe I sia maggiormente coinvolta nella regolazione di questi geni nel WAT, e conseguentemente nella determinazione del fenotipo metabolico di quest'organo. Studi precedenti effettuati nel nostro laboratorio hanno dimostrato che gli effetti di MS-275 nel muscolo scheletrico e nel BAT sono mediati dall'inibizione di HDAC3, suggerendola quale potenziale player anche nel WAT. La generazione di una linea murina con delezione specifica di HDAC3 (H3atKO) nel tessuto adiposo ha confermato questa ipotesi: in topi H3atKO abbiamo osservato una forte induzione dell'espressione di Pparg e di Ucp1, cui segue un aumento di altri marker di funzionalità adipocitaria (Glut4, Fabp4, Adipoq) e di BAT (Dio2, Elovl3, Cidea, Ppara).

CONCLUSIONE: Questi dati dimostrano che le HDAC di classe I, in particolare HDAC3, regolano il profilo metabolico del tessuto adiposo, reprimendo in questo distretto l'attivazione di Ucp1 e la capacità ossidativa del tessuto. Saranno necessari ulteriori studi per valutare se l'inibizione selettiva di HDAC3 possa essere considerata una potenziale strategia terapeutica nel trattamento di disordini metabolici, quali obesità e diabete di tipo 2.