

## L'ISTONE DEACETILASI 3 È UN FRENO MOLECOLARE DEL METABOLISMO CHE SOSTIENE LA TERMOGENESI NEL TESSUTO ADIPOSO BIANCO

Raffaella Longo<sup>1</sup>, Alessandra Ferrari<sup>1,5</sup>, Erika Fiorino<sup>1</sup>, Rui Silva<sup>1</sup>, Nico Mitro<sup>1</sup>, Gaia Cermenati<sup>1</sup>, Federica Gilardi<sup>3</sup>, Béatrice Desvergne<sup>3</sup>, Annapaola Andolfo<sup>4</sup>, Cinzia Magagnotti<sup>4</sup>, Donatella Caruso<sup>1</sup>, Emma De Fabiani<sup>1</sup>, Scott W. Hiebert<sup>2</sup> e Maurizio Crestani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti, 9 20133, Milano. - <sup>2</sup> Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37232, USA - <sup>3</sup>Centre Intégréatif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne 1015, Switzerland. - <sup>4</sup> ProMiFa, Protein Microsequencing Facility, San Raffaele Scientific Institute, Milano 20132, Italy. - <sup>5</sup>Present address: Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA.

**INTRODUZIONE E RISULTATI PRELIMINARI:** L'obesità e le complicanze cardiovascolari associate costituiscono un'emergenza socio-sanitaria. Per questa ragione, numerosi studi sono volti a comprendere la fisiologia del tessuto adiposo. Il tessuto adiposo bruno suscita notevole interesse per la sua capacità di bruciare grassi e produrre calore, un processo definito termogenesi. Anche il tessuto adiposo bianco può acquisire questa funzione, in un fenomeno definito "browning", in risposta a specifici stimoli ambientali (es. freddo). In modelli preclinici l'induzione del browning può contrastare l'obesità e le sue complicanze, quindi molte ricerche hanno lo scopo di approfondire lo studio di questi meccanismi per identificare una possibile strategia terapeutica. Nel nostro laboratorio abbiamo dimostrato che l'inibizione di istone deacetilasi (HDAC) di classe I, una famiglia di modificatori dell'epigenoma, riduce il peso e migliora la tolleranza al glucosio in topi obesi. Studi in vitro hanno dimostrato che HDAC3 è il principale attore di questi effetti.

**SCOPO:** Alla luce di queste osservazioni, abbiamo voluto verificare il ruolo della HDAC3 nella fisiologia del tessuto adiposo in un modello murino.

**METODI:** Per studiare il ruolo di HDAC3 nel tessuto adiposo, abbiamo generato una linea murina con delezione di Hdac3 nel tessuto adiposo (H3atKO). Il fenotipo del modello murino è stato determinato mediante analisi di espressione genica con qPCR e RNA-seq, epigenomica (immunoprecipitazione della cromatina) e metabolomica.

**RISULTATI:** La delezione di Hdac3 causa browning del tessuto adiposo sottocutaneo, che si traduce in una maggiore capacità dei topi H3atKO di mantenere la temperatura corporea in seguito ad esposizione al freddo (temperatura corporea dopo 24 h di esposizione al freddo nei topi WT  $34,7 \pm 0,30$  vs topi H3atKO  $35,8 \pm 0,21$ ). Analisi del trascrittoma e del metaboloma rivelano l'instaurarsi di un ciclo futile di lipolisi,  $\beta$ -ossidazione e lipogenesi con aumentata espressione di geni importanti per la lipolisi,  $\beta$ -ossidazione (livelli proteici di ACADL  $1,0 \pm 0,23$  in topi WT vs  $13,1 \pm 1,46$  in topi H3atKO) e lipogenesi (livelli di mRNA di Chrebp $\beta$   $1,0 \pm 0,40$  in topi WT vs  $6,0 \pm 1,98$  in topi H3atKO) e, parallelamente, ridotti livelli di acidi grassi ( $\mu\text{g}$  palmitato/mg proteine:  $109,0 \pm 14,3$  in topi WT vs  $70,3 \pm 8,23$  in topi H3atKO). Il ciclo futile del metabolismo degli acidi grassi sostiene la termogenesi. Infine, l'ablazione di Hdac3 rimodella selettivamente regioni della cromatina che regolano Pparg, Ppara e Ucp1 (livelli di acetilazione H3K27 di Pparg enhancer  $10,4 \pm 0,94$  in topi WT vs  $20,8 \pm 2,68$  in topi H3atKO).

**CONCLUSIONI:** I nostri risultati rivelano che l'ablazione adiposo-specifica di Hdac3 riprogramma l'espressione genica e il metabolismo a supporto del browning del tessuto adiposo bianco e suggeriscono che HDAC3 svolga un ruolo critico nella fisiologia del tessuto adiposo.

Finanziato da FP7 NR-NET PITN-GA-2013-606806 e da CARIPLO Foundation 2015-0641