

# VALUTAZIONE DELL'ESPRESSIONE DI REGOLATORI EPIGENETICI NEL TESSUTO ADIPOSO DI SOGGETTI OBESI CANDIDATI A CHIRURGIA BARIATRICA

Carmela Asteria, Simona Pedrotti, Davide Gabellini, Giorgia Scichilone,  
Cecilia Lucia Andrea Giassi, Alessandro Giovanelli

**Istituto Nazionale per la Cura dell'Obesità, INCO, IRCCS  
Policlinico San Donato**

Responsabile: *Alessandro Giovanelli MD*



**I.R.C.C.S. Policlinico  
San Donato**

Gruppo San Donato

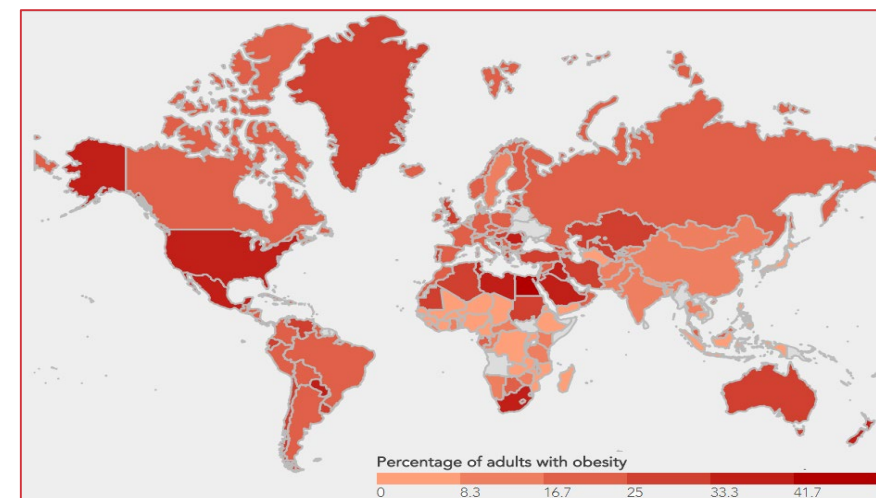


L'obesità è una malattia cronica, recidivante, caratterizzata da un eccesso di tessuto adiposo, che causa gravi danni alla salute per le sue conseguenze metaboliche. E' diventata una delle principali cause di invalidità e morte.

## DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA

### “Globesity”

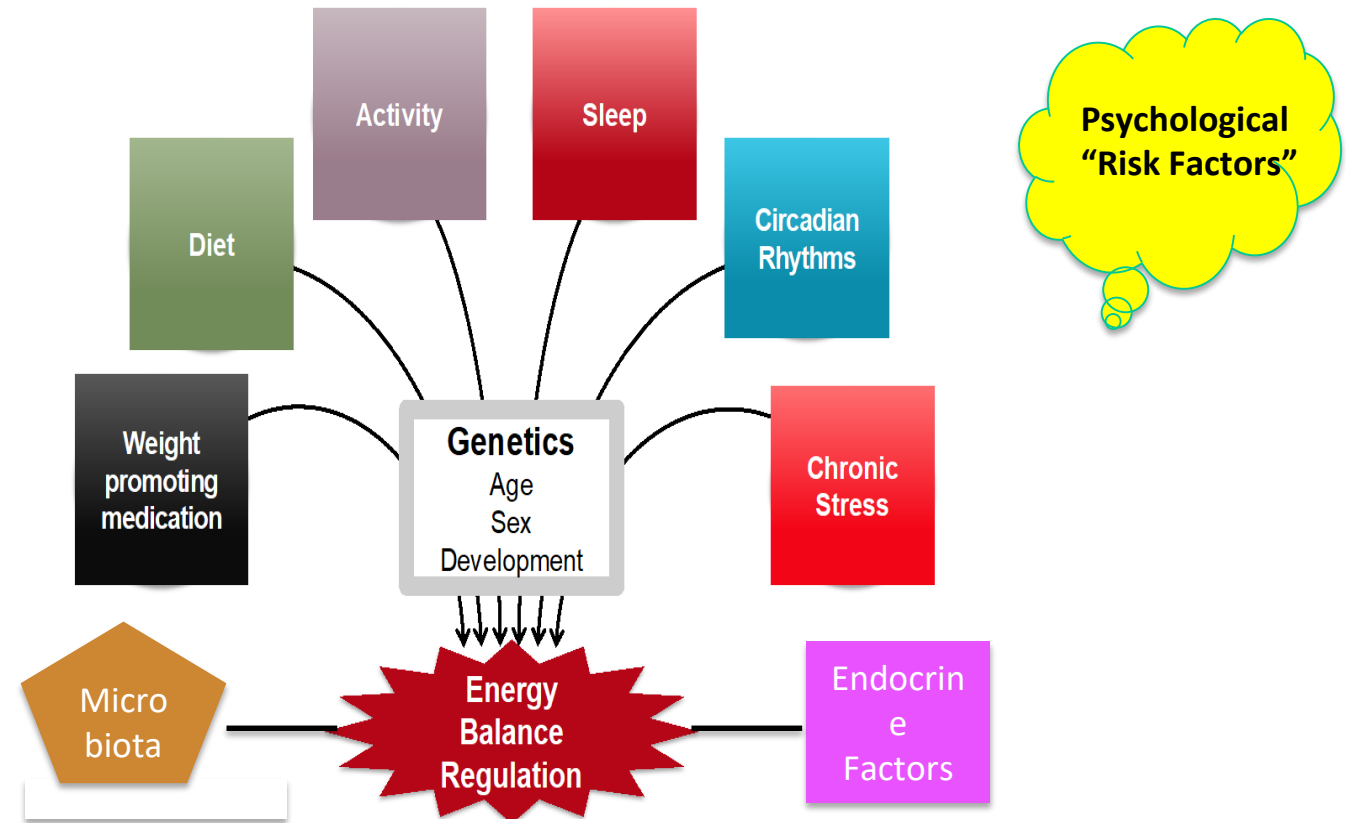
Globalmente circa 2 miliardi di adulti sono sovrappeso e oltre 600 milioni di questi sono obesi.



Mentre vi è certamente una componente genetica importante, l'attuale pandemia di obesità non può essere dovuta a cambiamenti genetici nella popolazione e quindi deve essere causata da cambiamenti nelle influenze ambientali.

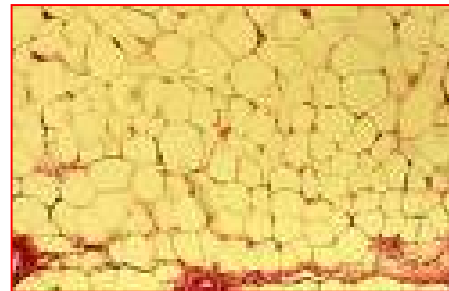
## EZIOLOGIA

### Modifiable Environmental / Lifestyle Factors



## EPIGENETICA DELL'OBESITA'

I processi epigenetici, che regolano l'espressione genica e mostrano plasticità in funzione dell'esposizione all'ambiente, sono i primi candidati per spiegare l'incremento dell'incidenza dell'obesità. Tuttavia, le basi cellulari e molecolari di questi processi e come essi contribuiscano allo sviluppo dell'obesità restano da chiarire.



Il target primario dell'obesità è il tessuto adiposo e per questo motivo, la comprensione della regolazione dello sviluppo e dell'epigenetica del tessuto adiposo ha un'importante rilevanza clinica.

GENOMA = DNA



EPIGENOME = sopra al DNA



CELL BIOLOGY

# The Suv420h histone methyltransferases regulate PPAR- $\gamma$ and energy expenditure in response to environmental stimuli

Simona Pedrotti<sup>1</sup>, Roberta Caccia<sup>1\*</sup>, Maria Victoria Neguembor<sup>1\*†</sup>, Jose Manuel Garcia-Manteiga<sup>2</sup>, Giulia Ferri<sup>1</sup>, Clara de Palma<sup>3</sup>, Tamara Canu<sup>4</sup>, Matteo Giovarelli<sup>5</sup>, Paolo Marra<sup>4</sup>, Amleto Fiocchi<sup>6</sup>, Ivan Molineris<sup>2</sup>, Michele Raso<sup>6</sup>, Francesca Sanvito<sup>7</sup>, Claudio Doglioni<sup>7</sup>, Antonio Esposito<sup>4</sup>, Emilio Clementi<sup>5,8</sup>, Davide Gabellini<sup>1‡</sup>

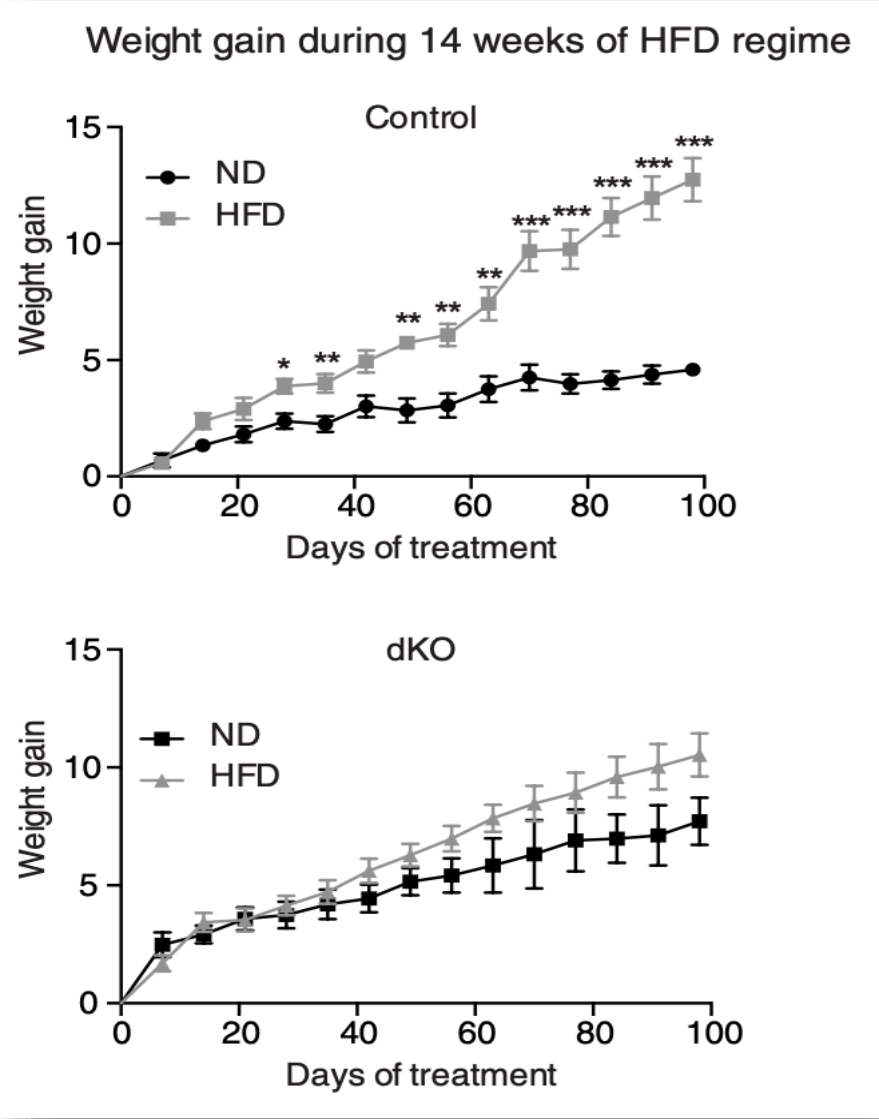
## DATI IN LETTERATURA

Questo studio ha identificato i regolatori epigenetici la cui espressione nel topo è regolata dalla dieta ad alto contenuto di grassi



Suv420h1 e Suv420h2 sono due istone-metiltrasferasi che catalizzano la di- e tri-metilazione della lisina 20 dell'istone H4 (*H4K20me2/3*) reprimendo in tal modo l'espressione dei geni target. Regolano il metabolismo e il peso corporeo, rispondendo agli stimoli ambientali

# DATI IN LETTERATURA



I grafici mostrano l'andamento del peso in due gruppi di topi: controllo e KO per i geni Suv420h. I soggetti dei due gruppi sono suddivisi tra coloro che assumono una dieta normale (ND) e coloro che assumono una dieta ingrassante/obesiogena (HFD)

Topi mancanti (KO) di queste due proteine nel grasso bruno hanno un aumentato metabolismo e sono resistenti all'obesità indotta da dieta ricca di grassi

Le proteine Suv420h controllano il metabolismo, inibendo direttamente l'espressione di PPAR- $\gamma$ , regolatore chiave del metabolismo glicemico, energetico, dell'adipogenesi e della biosintesi dei lipidi.

**Le proteine Suv420h sono regolatori epigenetici chiave di PPAR-gamma**

## END-POINTS

Approfondire i risultati degli studi preclinici effettuati sul topo, analizzando campioni di tessuto adiposo umano prelevato da soggetti obesi senza comorbidità associate, soggetti obesi con sindrome metabolica e soggetti sani normopeso:

-Valutare l'espressione dei regolatori epigenetici implicati nell'obesità (Suv420h1-Suv420h2)

-Valutare l'espressione dei bersagli molecolari dei regolatori epigenetici implicati nell'obesità (PPAR- $\gamma$ )

-Comparare il livello della modificazione epigenetica catalizzata dai tali regolatori



Acquisire informazioni utili per il possibile sviluppo di farmaci innovativi per il trattamento dell'obesità e della sindrome metabolica







Campione composto da **40 pz** obesi **candidati a chirurgia bariatrica**, di cui **20 SENZA** comorbidità e **20** affetti da SM secondo ATP III + **20** soggetti **normopeso**



Acquisizione di misure antropometriche come **peso, altezza, BMI, età, circonferenza vita e fianchi**



Prelievo di **6** campioni di tessuto adiposo bianco: **3** di tipo **viscerale** a livello omentale e **3** di tipo **sottocutaneo** a livello addominale

## CRITERI DI INCLUSIONE SOGGETTI OBESI SENZA COMORBIDITÀ:

- Candidati per BS
- Età compresa tra 18 e 65 anni
- BMI > 40 kg/m<sup>2</sup>
- Non affetti da DMT2, dislipidemia e IPA

## CRITERI DI INCLUSIONE SOGGETTI OBESI CON COMORBIDITÀ:

- Candidati per BS
- Età compresa tra 18 e 65 anni
- BMI > 35 kg/m<sup>2</sup>
- Affetti da SM in base ai criteri ATP III

## CRITERI DI INCLUSIONE SOGGETTI NORMOPESO:

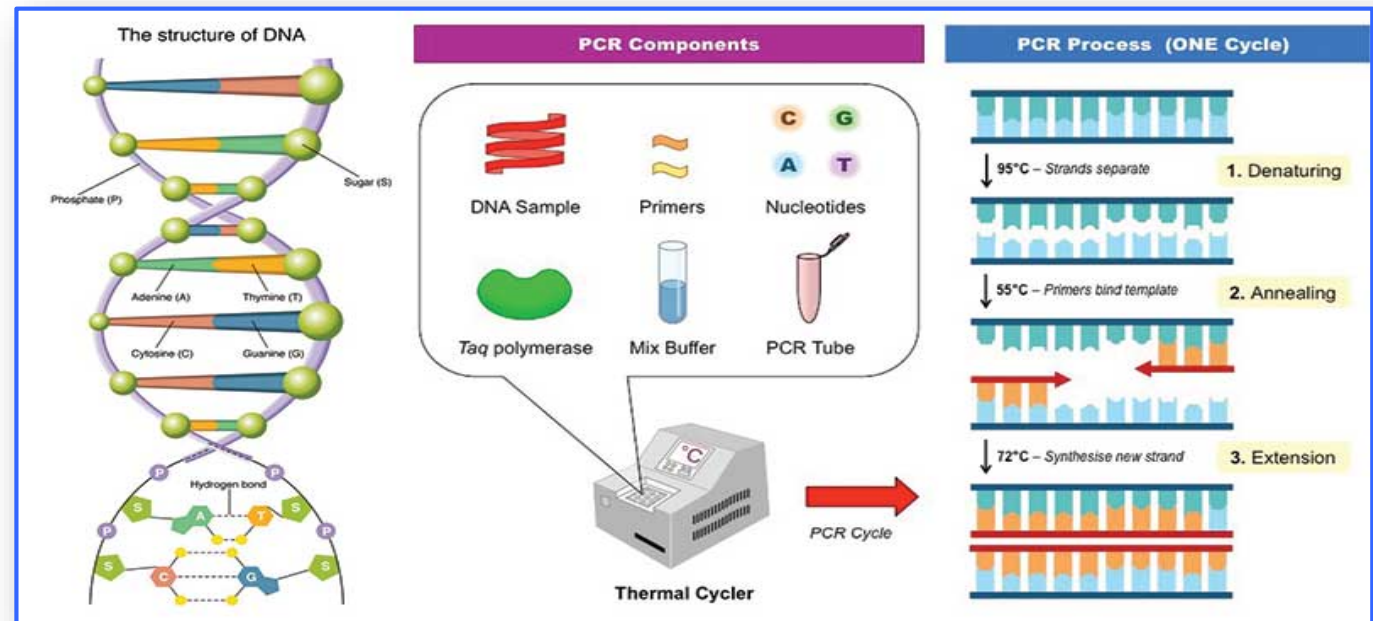
- Candidati per chirurgia addominale: colecistectomia o ernioplastica
- Età compresa tra 18 e 65 anni
- BMI 19 < BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>
- Circonferenza vita < 94 cm M, < 80 cm F.
- Non affetti da DMT2, dislipidemia e IPA



# ESTRAZIONE RNA E PCR

I campioni sono stati conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$  e analizzati presso il Laboratorio dell'Unità di ricerca, Espressione Genica e Distrofia Muscolare, dell'IRCCS San Raffaele.

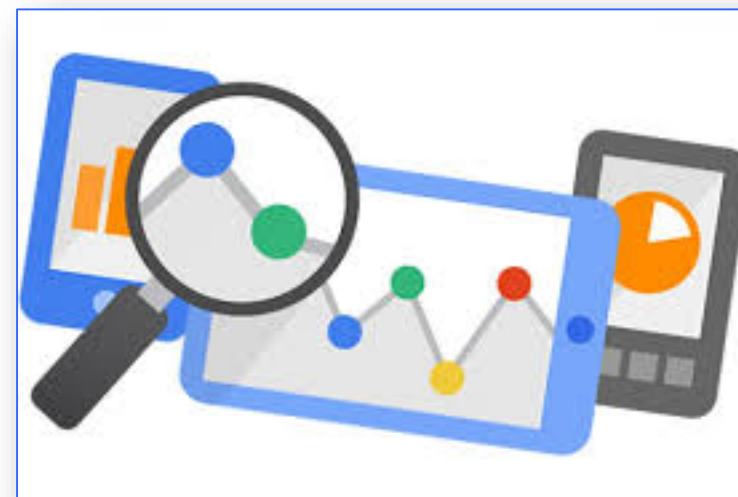
RNA estratto dai campioni con kit commerciale, poi retrotrascritto a cDNA per l'analisi dei livelli di espressione di SUV420h1, SUV420h2 e PPAR- $\gamma$  tramite PCR quantitativa.



## ANALISI STATISTICA

Fold Change Test, atto a valutare quante volte varia in positivo e in negativo il target genetico ricercato nel gruppo di pazienti affetti da obesità rispetto al gruppo di controllo.

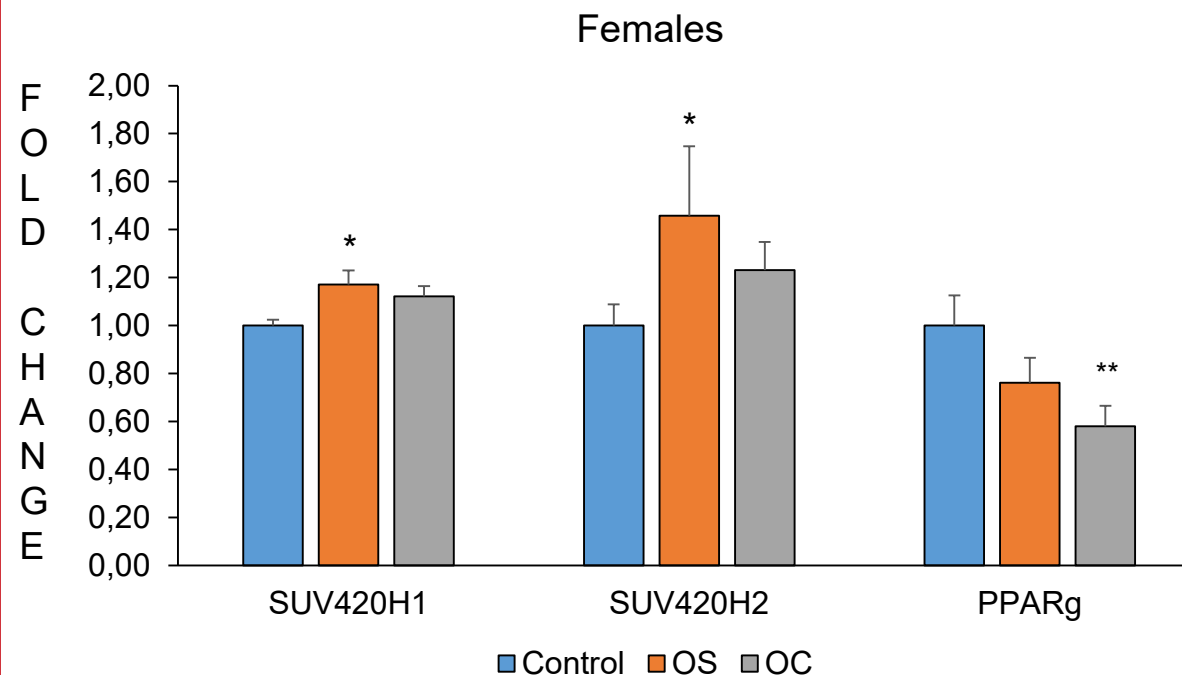
T-test, per definire il grado di significatività statistica (significatività statistica per  $p\text{-value} < 0,05$ ).



# RISULTATI PRELIMINARI

Valutare l'espressione dei regolatori epigenetici implicati nell'obesità (Suv420h1-Suv420h2) dei loro bersagli molecolari (PPAR- $\gamma$ ) a livello del grasso viscerale

## FEMMINE



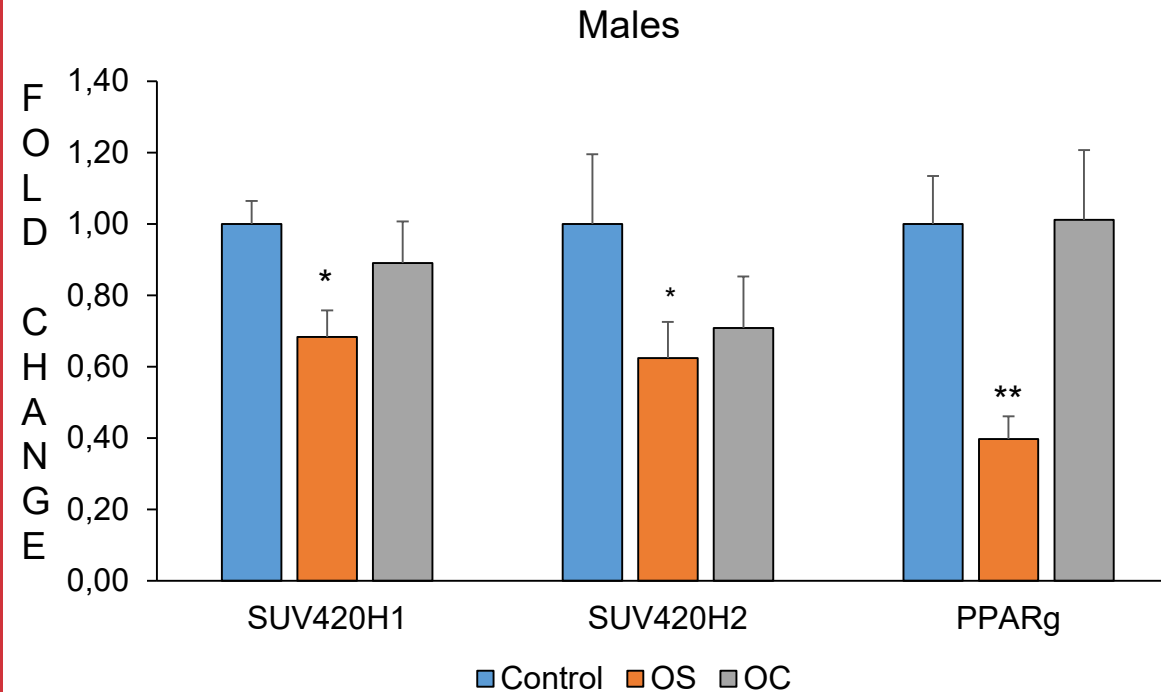
Nelle femmine obese, con e senza comorbidità, vi è un aumento nell'espressione di SUV420h1 ed SUV420h2 rispetto ai controlli e una concomitante riduzione dell'espressione di PPAR- $\gamma$ . Risultati in linea con il modello murino.

	SUV420H1	SUV420H2	PPAR- $\gamma$
Control	1,00	1,00	1,00
OS	1,2*	1,5*	0,8
OC	1,12	1,23	0,58**

# RISULTATI PRELIMINARI

Valutare l'espressione dei regolatori epigenetici implicati nell'obesità (Suv420h1-Suv420h2) dei loro bersagli molecolari (PPAR- $\gamma$ ) a livello del grasso viscerale

## MASCHI



	SUV420H1	SUV420H2	PPAR- $\gamma$
Control	1,00	1,00	1,00
OS	0,68*	0,62*	0,40**
OC	0,89	0,71	1,01

Nei soggetti maschi obesi con e senza comorbidità abbiamo trovato una riduzione nei livelli di espressione sia di SUV420h1 che di SUV420h2, rispetto ai controlli. Assenza di correlazione tra espressione delle proteine SUV420h e PPAR- $\gamma$ .

La mancanza di tale correlazione nei maschi potrebbe suggerire una diversa regolazione del metabolismo esercitata da SUV420h nei due sessi, che a sua volta, potrebbe dipendere, in prima ipotesi, dall'influenza degli ormoni sessuali. Inoltre, a livello del tessuto adiposo viscerale, organo con attività endocrino-metabolica, anche fattori paracrini, diversamente regolati dagli ormoni sessuali, potrebbero spiegare questi risultati.

## Work in progress....

- Valutare l'espressione di Suv420h1-Suv420h2 e di PPAR- $\gamma$  anche nel tessuto sottocutaneo
- Comparare il livello della modificazione epigenetica catalizzata dai tali regolatori

