Foto di Rachel

Citrus reticulata

Processo di "browning" attivato da succo di mandarino in ratti trattati con dieta high fat: ruolo dell'irisina

[parte 1]

Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare gli effetti di un succo di mandarino su ratti alimentati con una dieta High Fat, che riproduce molte condizioni tipiche della sindrome metabolica dell'uomo. Particolare enfasi è stata data al ruolo di irisina e dei mediatori a essa correlati per comprendere gli effetti benefici promossi dal succo di mandarino.

***Benedetta Lupetti**

La sindrome metabolica è un insieme di disfunzioni e fattori di rischio concomitanti che contribuiscono ad aumentare la possibilità di sviluppare patologie rilevanti.
Un meccanismo coinvolto nel miglioramento di tale condizione è la possibilità di conversione del tessuto adiposo bianco (WAT) in tessuto adiposo bruno (BAT) attraverso il fenomeno del "browning" (imbrunimento). Tra i vari fattori endogeni particolarmente implicati nel processo e di attuale rilevanza scientifica si individua l'irisina, ormone endogeno e miochina prodotta dal muscolo scheletrico durante la contrazione muscolare, che ha come bersaglio molti tessuti, tra cui il WAT, nel quale induce il processo di imbrunimento.
In virtù degli studi già effettuati in passato sui frutti del genere *Citrus*, e della conseguente identificazione di una spiccata attività nei confronti della condizione di sindrome metabolica, lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare gli effetti di un succo di mandarino su ratti alimentati con una dieta High Fat, che riproduce molte condizioni tipiche della sindrome metabolica dell'uomo. In particolare, è stata data enfasi al ruolo di irisina e dei mediatori a essa correlati per comprendere gli effetti benefici promossi dal succo di mandarino.

Irisina e il suo pathway metabolico

Irisina è un ormone rilasciato in abbondanza dalle fibre muscolari scheletriche in seguito all'esercizio fisico. È presente in vari distretti e in particolare a livello di tessuto adiposo bianco, tessuto adiposo bruno, ossa, cervello e, in generale, viene riconosciuta una sua implicazione nella regolazione del metabolismo energetico (Montanari *et al.*, 2017).

Irisina è stata citata per la prima volta e descritta in particolare come una miochina polipeptidica formata da 112 aminoacidi e indotta dall'esercizio fisico (Bostrom *et al.*, 2012). È il prodotto della scissione di una proteina codificata dalla fibronectina di tipo III contenente 5 geni (FNDC5). In particolare, FNDC5 stessa esegue la lisi attraverso un peptide di segnalazione, prima di essere secreta in circolazione come irisina: quindi è ritenuta il suo precursore (Martinez Munoz *et al.*, 2018).

Irisina è una miochina PGC-1α dipendente. A tal proposito, PGC-1α (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*) è una proteina, definita come co-attivatore trascrizionale, che media molte funzioni biologiche relative al metabolismo energetico; infatti si nota che la sua presenza a livello muscolare stimola la manifestazione di fattori intracellulari con funzioni specifiche a livello mitocondriale, come la proteina disaccoppiante 1 (UCP-1) situata a livello della membrana mitocondriale interna e nota come "termogenina" (Chen *et al.*, 2015).

I livelli di irisina circolante vengono spesso correlati con i livelli della citochina pro-infiammatoria interleuchina 6 (IL-6). Recenti scoperte suggeriscono un ruolo omeostatico di IL-6, talvolta persino antinfiammatorio, a seconda del tessuto e del momento in cui viene liberata (Maurer *et al.*, 2015).

In seguito a queste ricerche quindi, IL-6 è definita una "miochina", perché rilasciata dai miociti del muscolo scheletrico va a regolare l'omeostasi di diversi tessuti incluso il tessuto adiposo: attraverso questa via metabolica, quindi, acquisisce un comportamento molto simile a quello di irisina (Kristóf *et al.*, 2019).

IL-6 e numerosi altri fattori endogeni portano alla stimolazione di UCP-1, effettore finale in grado di innescare il fenomeno del browning (Montanari *et al.*, 2017).

Una ricerca recente ha dimostrato per la prima volta che i recettori per irisina, fino al momento sconosciuti, si trovano a livello degli osteociti e sono identificati nelle integrine αV, mentre i recettori a livello degli altri tessuti

Foto di Dmitry Valberg

Il succo di mandarino è stato testato su ratti alimentati con una dieta High Fat, che riproduce molte condizioni tipiche della sindrome metabolica dell'uomo, con risultati positivi

rimangono ancora ignoti. Sono stati condotti quindi degli studi che vedono irisina coinvolta nel rimodellamento e nell'apoptosi degli osteociti (Greenhill, 2019).
Gli studi hanno dimostrato, come potenziale meccanismo della miochina sul tessuto osseo, una capacità di riduzione della sclerostina, che ha effetti anti-anabolizzanti sulla formazione ossea, e un aumento dell'osteoprotegerina la quale inibisce l'osteoclastogenesi. È stato dimostrato che questa miochina è un fattore determinante dello stato minerale osseo, più forte rispetto alla fosfatasi alcalina ossea. Nell'uomo, infatti, irisina è correlata inversamente con i livelli sierici di sclerostina e nelle donne in post-menopausa è associata a una riduzione delle fratture causate da fragilità vertebrale. È stato scoperto che gli effetti dell'irisina circolante sulla massa ossea sono sistemici, piuttosto che specifici per i siti ossei in cui si applica il carico da parte del muscolo; quindi, l'effetto di rimodellamento osseo da parte di irisina è generalizzato e non specifico per l'osso legato al muscolo dal quale viene rilasciato l'ormone (Colaianni *et al.*, 2019).

Irisina e ipertrofia muscolare

Irisina è prodotta in abbondanza dal muscolo scheletrico in seguito all'esercizio fisico; quindi, può essere un buon bersaglio terapeutico per intervenire nelle patologie legate a disfunzione muscolare e condizioni legate a denervazione che portano ad atrofia muscolare.
In uno studio su modello animale (Reza *et al.*, 2017) è stato dimostrato che iniezioni esogene del peptide provocano ipertrofia muscolare e maggiore forza di presa, riduzione della fibrosi e della necrosi delle fibre muscolari: infatti in pazienti con distrofia muscolare la funzionalità muscolare si riduce nel tempo a causa di cicli ripetuti di degenerazione e rigenerazione del tessuto muscolare scheletrico portando inevitabilmente a debolezza muscolare (Menezes e North, 2012).
Nell'uomo i livelli di irisina sono correlati con la circonferenza del bicipite e con l'espressione di IGF-1, un ormone importante nei processi di crescita del bambino e negli effetti anabolizzanti, che mantiene in età adulta (Huh *et al.*, 2012). Recentemente, infatti, è stato dimostrato che irisina è in grado di stimolare alcuni geni correlati alla crescita muscolare anche nell'uomo (Huh *et al.*, 2014). Nello stesso articolo è stato esaminato come irisina abbia effetto sull'ipertrofia delle cellule muscolari scheletriche umane (HSMC). I dati hanno mostrato che dopo il trattamento con irisina i livelli di IGF-1 sono aumentati in maniera dose-dipendente, mentre quelli di miostatina, fattore che limita la crescita muscolare, erano diminuiti. Si è osservato anche un aumento di PGC-1α4, isoforma di PGC-1α recentemente scoperta e specificatamente correlata all'ipertrofia muscolare: ciò conferma l'effetto positivo del trattamento con irisina sulla crescita muscolare.

Irisina e "browning"

Come accennato in precedenza, irisina è in grado di innescare il fenomeno del browning: la ricerca si dedica allo studio di questo fenomeno in quanto sembra essere il bersaglio per il miglioramento di alcuni disordini metabolici.

Tessuto adiposo bruno

Il tessuto adiposo è formato sia da WAT che BAT, dove WAT costituisce il sito primario di accumulo di energia e di rilascio di ormoni e citochine che modulano il metabolismo di tutto il corpo. Al contrario, BAT è un tessuto concepito per mantenere la temperatura corporea più elevata della temperatura ambientale attraverso la produzione di calore e, in particolare, attraverso la termogenesi senza brividi (per distinguerla dal classico brivido con contrazione muscolare involontaria indirizzata alla produzione di calore).
Nel 1908 il BAT di un soggetto umano è stato descritto come: "di colore rosa e lobulato, presenta molto l'aspetto di un pancreas fresco" (Aherne e Hull, 1966); è risultato infatti all'analisi istologica molto ricco di mitocondri, a loro volta ricchi di citocromi contenenti ferro che, insieme a un'importante vascolarizzazione, gli conferiscono un colore bruno. L'aspetto lobulato è dato dal fatto che, come WAT, anch'esso è formato da adipociti, più piccoli però rispetto ai classici bianchi di grandezza proporzionale alla quantità di lipidi immagazzinati. Nel BAT tali lipidi sono contenuti in multiple goccioline. Questa organizzazione gli conferisce un aspetto multiloculare.
Nell'adipocita bianco la grande quantità di energia immagazzinata attraverso un unico lipide uniloculare che toglie spazio agli organelli della cellula, come nucleo e mitocondri; mentre nell'adipocita bruno sono presenti molteplici gocce lipidiche e molti mitocondri, protagonisti del processo di termogenesi.
Il processo di termogenesi avviene all'interno dei mitocondri grazie alla presenza della proteina UCP1, situata nella membrana mitocondriale interna.
Gli adipociti marroni sono in grado di ossidare rapidamente le proprie riserve di acidi grassi producendo calore e aumentando così il tasso metabolico (Heaton *et al.*, 1978).
I siti di deposito del tessuto bruno nell'uomo variano a seconda dell'età: fin dalla nascita è presente a livello interscapolare e inizia a scomparire gradualmente verso i 30 anni di età. Si comporta nello stesso modo a

livello del mesocolon, del grande omento, del pancreas, della regione splenica, a livello inguinale e della parete addominale anteriore. Di particolare interesse però sono i depositi renali e soprarenali, i depositi para-aortici, quelli nel collo e nel mediastino, i quali permangono in tutte le fasce di età. Si intuisce quindi che le aree periferiche, come quella interscapolare e la parete addominale anteriore, sono le prime a perdere il BAT, mentre quelle più profonde tendono a mantenerlo per l'intera vita. Questo potrebbe derivare dall'immaturità del meccanismo di regolazione del calore nei primi anni di vita e, d'altra parte, dalla necessità di mantenere un ruolo di "protezione" verso gli organi più profondi del corpo, definita nel 1963 da Smith "giacca termogenica". L'attività di questa giacca diminuisce dopo il primo decennio, ma sembra essere temporaneamente riattivata nel sesto decennio per poi diminuire nuovamente nell'ottavo.

Questa variazione può essere correlata all'abbassamento del tasso metabolico basale che produce l'età. L'aumento di attività nel sesto decennio può rappresentare un meccanismo compensatorio della produzione di calore, mentre la successiva diminuzione può essere un fattore relativo all'alto rischio di ipotermia durante l'età avanzata (Wu *et al.*, 2012).

La disposizione del tessuto adiposo bruno è molto simile tra roditori ed esseri umani, la differenza è che, come detto in precedenza, i mammiferi più grandi spesso perdono importanti depositi di questo tessuto subito dopo l'infanzia (Wu *et al.*, 2012).

Tessuto adiposo "beige"

È stato dimostrato che esistono due tipologie di BAT: uno, il tessuto adiposo bruno propriamente detto, derivante dal regolatore miogenico Myf-5, proteina coinvolta nella differenziazione muscolare, e in particolare nello sviluppo del muscolo scheletrico; l'altro si identifica come un tessuto adiposo termogenico inducibile, che è generato dal WAT, con caratteristiche immunoistochimiche simili al BAT, ma non è derivante da Myf-5. Infatti, questo tipo di tessuto adiposo, solo se stimolato, è in grado di esprimere la proteina UCP1, e prende il nome di "beige", in quanto è composto da cellule che assomigliano agli adipociti bianchi avendo un'espressione basale estremamente bassa di UCP1, ma come il grasso bruno classico, rispondono alla stimo-

Foto di Albert Lo

Citrus reticulata ha una spiccata attività nei confronti della condizione di sindrome metabolica

lazione ciclica dell'AMP con alti tassi di espressione e funzionamento dell'UCP1. Si ritiene quindi che il tessuto adiposo beige abbia un modello di espressione genica unico, e abbia caratteristiche in parte del WAT e in parte del BAT, ovvero le cellule a riposo hanno un livello basale molto basso di UCP1, paragonabile a quello degli adipociti bianchi, ma hanno la capacità di stimolare l'espressione del gene che codifica per UCP1 e attivare un robusto programma di respirazione e dispendio energetico equivalente a quello degli adipociti bruni classici (Wu *et al.*, 2012).

Gli adipociti beige sono rilevabili facilmente a livello dei depositi adiposi sottocutanei piuttosto che da quelli viscerali, e in particolare a livello inguinale (Cousin *et al.*, 1992).

Di fatto, l'analisi dell'espressione genica di questo tessuto adiposo "beige" sottocutaneo ha mostrato livelli di mRNA, che codificano per proteine come CIDEA e PGC1α, intermedi tra quelle del WAT viscerale e il classico BAT (interscapolare), che sarebbero invece elevati negli adipociti bruni.

I dati sperimentali suggeriscono fortemente che almeno una parte della natura "marrone" di questo deposito adiposo sottocutaneo è indipendente da fattori estrinseci, come innervazione, flusso sanguigno, livello di ossigenazione e sostanze nutritive (Wu *et al.*, 2012).

Gli adipociti beige sembrano svilupparsi durante l'età adulta, e non essere presenti in età infantile (Wu *et al.*, 2013). Questa osservazione è stata confermata da due recenti lavori (Sharp *et al.*, 2012; Lidell *et al.*, 2013). Le analisi dell'espressione genica di campioni di autopsia di più depositi di grasso umano suggeriscono che la maggior parte delle cellule di grasso UCP-1 attive nell'uomo mostrano caratte-

Foto di manuel m. v.

Il succo di mandarino, nelle condizioni sperimentali dello studio, ha influenza la funzionalità mitocondriale a livello cardiaco

Foto di liz west

Foto di Marco Verch

Irisina è prodotta in abbondanza dal muscolo scheletrico in seguito all'esercizio fisico

ristiche di grasso beige anziché marrone (Sharp *et al.*, 2012). Gli studi sui tessuti adiposi della regione interscapolare dei neonati umani post mortem hanno confermato che in essi questo deposito è composto da adipociti marroni classici come nei mammiferi più piccoli (Lidell *et al.*, 2013).

Attivazione del processo di browning

Il processo di conversione degli adipociti bianchi in adipociti bruni, può essere guidata da diversi fattori, sia endogeni che esogeni.

Molti fattori quindi, li troviamo direttamente all'interno del nostro organismo e necessitano solamente di essere stimolati.

1) Uno dei principali elementi che gestisce questo fenomeno è la stimolazione simpatica: l'interazione della noradrenalina (NE) con i recettori β3-adrenergici (β3-AR) presenti sulla membrana plasmatica degli adipociti bianchi avvia una cascata di trasduzione del segnale che termina nella sovraespressione di UCP-1 e altre proteine termogeniche (Montanari et al, 2017). L'esposizione cronica al freddo è l'attivatore simpatico più efficace, poiché induce una massiccia risposta termogenica nel tessuto adiposo bianco. Spesso però l'esposizione al freddo è inadatta per alcune categorie di pazienti (per esempio i soggetti obesi); pertanto, negli ultimi anni sono stati studiati altri cosiddetti "agenti di crescita" del tessuto adiposo bruno.

D'altra parte, il rilascio di NE è regolato centralmente da un numero di proteine prodotte dal sistema nervoso centrale stesso o da altri tessuti periferici. Una di queste proteine è la leptina, una citochina il cui rilascio è proporzionale alla massa di tessuto adiposo; una volta in circolo attiva una serie di recettori che portano all'attivazione finale del rilascio periferico di NE (Smith e Vale, 2006).

Un altro elemento che porta all'attivazione di NE, ma anche direttamente all'aumento del BAT, è il NFG (*nerve growth factor*), ovvero quella proteina coinvolta nello sviluppo del sistema nervoso che è stata identificata infatti come regolatore dell'omeostasi energetica. La sua scissione proteolitica dà origine a numerosi neuropeptidi bioattivi tra cui il TLQP-21, che ha dimostrato di attivare centralmente il rilascio di NE e, di conseguenza, i suoi effetti includono la sovra-espressione di UCP1 in WAT e la riduzione della massa grassa a seguito di una dieta ricca di grassi (HFD) nei ratti (Bartolomucci *et al.*, 2006). Parallelamente, lo stesso fattore modula l'attività simpatica che porta al browning del WAT in risposta a segnali ambientali, come l'esposizione al freddo (Cao *et al.*, 2011).

Altre adipochine simili alla leptina partecipano al processo di browning, inclusa l'adiponectina, che aumenta fortemente con l'esposizione al freddo, reclutando gli adipociti beige, come dimostrato in uno studio sui topi (Hui X. *et al.*, 2015).

Altra adipochina coinvolta nel processo è l apelina che aumenta con obesità e iperinsulinemia (Boucher *et al.*, 2005). Porta all'aumento dell'espressione del gene che codifica per UCP-1, fa-

vorendo così il processo di termogenesi (Than *et al.*, 2015).
2) Accanto alla NE, un altro regolatore dell'attivazione di UCP-1, e quindi del browning, è la ghiandola tiroidea. Ciò è reso possibile attraverso la produzione degli ormoni tiroidei e in particolare T3 (triiodotironina). Infatti, a livello degli adipociti bianchi esistono dei recettori per T3 che, una volta attivati, stimolano l'espressione di UCP-1, pertanto tale processo è proporzionale alla concentrazione di T3 nel tessuto adiposo (Bargut *et al.*, 2016).

3) L'espressione di UCP-1 viene stimolata anche dal fattore di crescita dei fibroblasti (FGF21), fattore endocrino prodotto principalmente dal fegato, coinvolto nella regolazione del metabolismo lipidico epatico e della glicemia attraverso la regolazione delle cellule beta del pancreas (Cereijo *et al.*, 2015).
È stato dimostrato che a livello degli adipociti è presente un recettore specifico (FGF), il quale una volta attivato innesca un meccanismo che porta all'espressione di UCP-1, inducendo in questo modo il browning nel WAT e il processo di termogenesi nel BAT (Fisher *et al.*, 2012).
A dimostrazione del suo ruolo nel processo di browning e termogenesi, è stato osservato che nei pazienti obesi il pathway di FGF21 è compromesso dall'ambiente infiammatorio presente a livello del WAT; poiché un aumento del TNF (fattore di necrosi tumorale) che sostiene una situazione infiammatoria, sviluppa un fenotipo resistente al fattore interferendo così con l'espressione di UCP-1 e in generale con i processi di termogenesi e di browning (Fisher *et al.*, 2010).

4) BMP7 (proteina morfogenetica ossea), proteina coinvolta nell'embriogenesi e specializzata nella formazione e nella crescita ossea e cartilaginea, è implicata nel processo di browning del WAT, come del resto anche le altre proteine appartenenti a questa famiglia. La BMP7, in particolare, stimola l'espressione dei primi regolatori coinvolti nei processi di termogenesi e browning, in particolare è in grado di attivare PGC-1 α, e quindi di stimolare la sintesi finale di UCP-1 (Seale, 2015).
Un altro membro della famiglia di proteine morfogenetiche ossee, BMP8B, è fondamentale per mantenere il processo termogenico nel BAT. È in grado di migliorare la risposta di NE negli adipociti marroni migliorando così l'espressione di UCP1 (Whittle *et al.*, 2012). A livello centrale, l'effetto termogenico di BMP8B sia in BAT che in WAT è sessualmente dimorfico: è stato osservato solo nelle femmine, in quanto dipende dai livelli di estradiolo ovarico (Martínez de Morentin *et al.*, 2014). Inoltre, BMP8P aumenta il rilascio del neuropeptide orexina (OX) nell'area ipotalamica laterale, la quale interagendo con il suo recettore OX-1, ricopre un ruolo fondamentale nella differenziazione degli adipociti marroni maturi, e nel promuovere il processo di termogenesi (Sellayah e Sikder, 2012).
Diversi studi suggeriscono un possibile ruolo nel processo di browning di un'altra proteina appartenente alla stessa classe: BMP4; anche se tale ruolo è ancora controverso (Xue *et al.*, 2014; Gustafson *et al.*, 2015). Uno studio più recente dimostra un ruolo opposto per BMP4 come induttore del passaggio da un fenotipo marrone a uno bianco (Modica *et al.*, 2016).

5) I peptidi cardiaci natriuretici sono stati riconosciuti recentemente come ormoni metabolici con un ruolo nella regolazione della mobilizzazione dei grassi durante l'esercizio fisico, nell'ossidazione dei grassi da parte del muscolo scheletrico e nel browning degli adipociti bianchi (Coué *et al.*, 2016).
La conversione del WAT in BAT e il processo di termogenesi sono sostenuti anche da sostanze che lo stesso WAT è in grado di produrre, ovvero i mediatori lipidici. Il precursore di questi elementi è l'acido arachidonico, che attraverso le isoforme dell'enzima cicloossigenasi (COX), contribuisce alla produzione di prostaglandine e trombossani, e attraverso le lipoossigenasi (LOX) sintetizza i leucotrieni. In parti-

colare, la produzione di PGE2 (prostaglandina E2) stimola la differenziazione dei preadipociti bianchi verso un fenotipo bruno (Vegiopoulos *et al.*, 2010).
Ciò nonostante, una ricerca più recente mostra che un marcato aumento di acido arachidonico derivante dalla dieta, con conseguente innalzamento di PGE2, inibisce il percorso di conversione del tessuto adiposo da bianco a marrone poiché diminuisce l'espressione di UCP-1 (Pisani *et al.*, 2014).

6) Tra i siti implicati nella regolazione dell'attività del BAT è fondamentale l'ipotalamo (Madden e Morrison, 2009) e in particolare l'ipotalamo dorsomediale (DMH), che sembra essere una struttura chiave per la termogenesi (Enriori *et al.*, 2011). Questo è reso possibile grazie al fatto che i neuroni DMH proiettano direttamente sui neuroni simpatici del Raphe Pallidus (Rpa), i quali innervano i neuroni simpatici del BAT. È stato osservato infatti che la stimolazione ottica o farmacogenetica dei neuroni DMH induce la termogenesi nel BAT (Kataoka *et al.*, 2014).
L'attivazione simpatica del nucleo del Rpa è modulata da un circuito serotoninergico, quindi anche la serotonina (5-HT) è ritenuta direttamente coinvolta in questo processo (Oh *et al.*, 2015).

7) Tra i fattori endogeni che stimolano il browning troviamo l'adenosina, la quale svolge un duplice ruolo nel tessuto adiposo: in WAT, inibisce la lipolisi, mentre in BAT, la aumenta. È probabile che i diversi recettori dell'adenosina presenti nei due tipi di cellule, A1 negli adipociti bianchi e A2 in quelli marroni, scatenino effetti diversi. Una corretta stimolazione farmacologica del recettore A2 con gli agonisti selettivi potrebbe indurre il browning del WAT (Montanari *et al.*, 2017).

8) Tra gli ormoni, uno direttamente coinvolto nel processo è la melatonina, è secreta da vari tessuti e organi, ma la principale fonte di secrezione è la ghiandola pineale, ed è innescata dal rilascio di NE in gangli specifici. Oltre al suo ruolo specifico, che è quello di regolare il ciclo circadiano, la melatonina è coinvolta anche nella regolazione della sintesi dell'insulina e del metabolismo energetico del tessuto adiposo (Saarela e Reiter, 1994). Recenti scoperte dimostrano che ratti pinealectomizzati a lungo termine sono sovrappeso, diabetici e con fisiologia del tessuto adiposo compromessa, e le condizioni normali vengono ripristinate con l'integrazione giornaliera di melatonina (Cipolla-Neto *et al.*, 2014).
Negli animali normali invece, la somministrazione cronica di melatonina mostra la riduzione del peso corporeo e della massa grassa dell'addome attraverso l'attivazione del BAT e il processo di browning che si attiva nel WAT (Tan *et al.*, 2011).

9) Importanti mediatori coinvolti nel fenomeno del browning sono le miochine: rilasciate dal muscolo scheletrico durante l'esercizio fisico e in particolare durante la contrazione delle fibre muscolari, collegano l'esercizio fisico alla perdita di massa grassa (Boström. *et al.*, 2012).
L'acido β-aminoisobutirrico (BAIBA) per esempio, metabolita di valina e timina, è un attivatore di PGC-1α. Nei modelli animali, è stato dimostrato che BAIBA è un forte stimolante dell'attività mitocondriale e rafforza l'espressione di geni correlati al BAT negli adipociti bianchi (Kammoun e Febbraio, 2014).
Irisina è riconosciuta come una potente miochina che induce il browning del WAT in molti modelli animali. Un recente studio sugli adipociti umani ha mostrato che irisina agisce attraverso la stimolazione della via MAPK p38 e autoregola positivamente l'espressione FNDC5 degli adipociti (Zhang *et al.*, 2016).
Nel primo studio sistematico svolto nel tentativo di definire il pathway intracellulare attivato da irisina sul tessuto adiposo umano è stato dimostrato che in colture cellulari di adipociti umani maturi trattati con irisina (50 nmol/L) per 4 giorni, si verifica una sovraregolazione dei geni correlati al browning (UCP1, PGC1A e PRDM16) (Zhang Y. *et al.*, 2016).
Successivamente, è stata analizzata l'espressione della proteina UCP-1 dopo il trattamento con irisina mediante saggi immunochimici e saggi di immunofluorescenza. L'espressione di UCP-1 appare stimolata e la percentuale di cellule positive per UCP-1 è aumentata, suggerendo fortemente che irisina ha indotto il browning degli adipociti maturi (Zhang Y. *et al.*, 2016).

Irisina e Sindrome Metabolica

La sindrome metabolica (MetS) è considerata una condizione pre-patologica in cui coesistono vari fattori di rischio, come sovrappeso/obesità, dislipidemia, ipertensione e insulino-resistenza, che aumentano la possibilità di sviluppare patologie sistemiche, soprattutto a livello cerebrale, cardiovascolare e del metabolismo. Primo fattore è l'obesità, che innesca poi una serie di disfunzioni d'organo che portano alla conclamazione della malattia.
Dopo la scoperta del ruolo funzionale svolto dal BAT negli adulti umani, nuovi approcci terapeutici per la prevenzione e la terapia di MetS sono indirizzati all'induzione del "browning", quindi alla conversione del tessuto adiposo verso un tessuto che dissipa energia.
Irisina, essendo uno degli agenti che promuovono il fenomeno di

imbrunimento, è considerata un target interessante per migliorare le varie patologie concomitanti a un disordine metabolico più vasto, che è la sindrome metabolica.
Park *et al.* (2013) hanno osservato che in pazienti affetti da sindrome metabolica i livelli di irisina erano più alti.
Recentemente è stato scoperto che in topi obesi, l'irisina ricombinante (r-irisina) stimola l'imbrunimento degli adipociti bianchi causando perdita di peso e miglioramento dell'insulino-resistenza. L'ormone può essere pertanto considerato un bersaglio attraente per combattere obesità e diabete (Zhang *et al.*, 2014).
Queste ricerche suggeriscono che irisina potrebbe contribuire alla regolazione dell'omeostasi energetica e potrebbe diventare un potenziale bersaglio per la terapia della disfunzione metabolica associata all'obesità. Ulteriori osservazioni cliniche hanno evidenziato infatti che i livelli di irisina circolante sono ridotti nell'uomo obeso (Yan *et al.*, 2014; Moreno-Navarrete *et al.*, 2013), nei roditori (Bilski *et al.*, 2015) e nei pazienti con diabete (Espes *et al.*, 2015) o malattia renale cronica (Wen *et al.*, 2013).

Irisina e insulino-resistenza

Le ricerche mostrano una correlazione negativa tra irisina e livelli di glucosio ematici; infatti, in uno studio su pazienti adulti cinesi (Martinez Munoz *et al.*, 2018) è stato riscontrato che la diminuzione di irisina era associata a un aumentato rischio di manifestare iperglicemia, poiché l'ormone viene considerato protettivo contro l'insulino-resistenza mostrando associazioni negative con livelli elevati di insulina a digiuno e emoglobina glicata (Yan *et al.*, 2014).
Le stesse correlazioni con glucosio a digiuno ed emoglobina glicata sono state confermate in altre popolazioni e fasce di età (Al-Daghri *et al.* 2014).

Facendo riferimento a questi dati, si intuisce che irisina potrebbe essere un efficace strumento terapeutico per il trattamento del Diabete Mellito di tipo 2. Infatti, uno studio (Giorgino *et al.*, 2017) dimostra che irisina ha un chiaro effetto di stimolazione della produzione di insulina e svolge inoltre un'azione protettiva sulle cellule beta pancreatiche.

MARCHIO STORICO
A. MINARDI & FIGLI S.R.L.

Via Boncellino 32 - 48012 Bagnacavallo (Ra)

90 anni di esperienza nella lavorazione e nel commercio all'ingrosso delle piante officinali

Tel. (0545) 61460 – Fax (0545) 60686 – http: www.minardierbe.it – e-mail: info@minardierbe.it

Irisina e sistema cardiovascolare

Alcuni studi correlano le malattie cardiovascolari (CVD) con irisina (Aronis *et al.*,2015).
In particolare, è stato dimostrato che irisina agisce come protettore dell'endotelio vascolare umano aumentando in modo significativo la proliferazione delle cellule endoteliali attraverso la via delle MAP-chinasi ERK, fattori di trascrizione che regolano l'espressione di specifiche proteine. Inoltre, è stata osservata una diminuzione dell'apoptosi indotta da alte concentrazioni di glucosio ematico circolante (Song *et al.*, 2014).
In un altro studio sono stati dimostrati gli effetti proangiogenici di irisina (Wu *et al.*, 2015).
Una delle principali cause di malattie cardiovascolari è la formazione della placca aterosclerotica, dovuta principalmente all'accumulo di lipoproteine nella parete arteriosa, che portano inevitabilmente a una degenerazione della stessa.
Xiong *et al.* (2015) hanno dimostrato che infusioni sottocutanee di irisina in topi obesi riducevano nel sangue i livelli di colesterolo.
Il dato è stato ulteriormente confermato somministrando irisina a topi trattati con una dieta ad alto contenuto di grassi ed è stata osservata una netta riduzione di VLDL, LDL e colesterolo totale, mentre non è stato evidenziato alcun effetto sui trigliceridi epatici (Thang *et al.*, 2017).
Sempre in ambito di CVD, irisina sembra avere un ruolo anche sull'infarto del miocardio.
Kulogu *et al.* (2014) hanno dimostrato che i livelli plasmatici di irisina diminuiscono gradualmente, nell'arco di 24 ore, dopo avere indotto sperimentalmente un infarto del miocardio nei ratti, come confermato da Emanuele *et al.* (2014) nello studio in cui sono stati misurati i livelli di irisina plasmatica in 3 differenti gruppi di soggetti: anziani liberi da malattia, giovani controlli sani, giovani pazienti con infarto del miocardio acuto. I risultati hanno mostrato l'aumento dei livelli sierici di irisina nei pazienti anziani e una significativa discesa dei valori nei giovani pazienti con infarto del miocardio.
Ciò induce a pensare che irisina sia coinvolta non solo nei disturbi vascolari, ma anche nella modulazione della durata della vita, ipotesi che dovrà essere confermata da ulteriori ricerche; infatti poiché l'invecchiamento è caratterizzato da un declino della forma fisica, le molecole associate alla conservazione della massa muscolare possono essere implicate nella probabilità di raggiungere estrema longevità e, nell'ottica dei potenziali effetti di irisina sia sulla funzione vascolare che sulla massa muscolare scheletrica, si pensa possa contribuire al successo dell'invecchiamento, oltre che essere considerata come potenziale marker di rischio vascolare e agire in particolare come fattore protettivo per lo sviluppo di malattie cardiovascolari legate all'età.
Non è da escludere però, che i risultati dei livelli elevati di irisina nei centenari possa essere una casualità, mancando nello studio l'inclusione di un gruppo di soggetti anziani malati. Per questo tali scoperte non sono sufficienti, ma sicuramente stimolano ulteriori ricerche sul ruolo svolto da irisina non solo nei disturbi vascolari, ma anche nel controllo dell'invecchiamento e nella modulazione della durata della vita (Emanuele *et al.*, 2014).

Irisina e dieta

Vista l'importanza di irisina nella regolazione di varie patologie, metaboliche e non, negli ultimi anni la ricerca ha investito sulla possibilità di assumere sostanze che stimolino la produzione di tale ormone, attraverso la dieta o l'integrazione di sostanze naturali.
De Macêdo *et al.* (2017) hanno valutato su topi femmine la possibile induzione di irisina dovuta alle macromolecole introdotte con diete di tipo diverso: standard (STD), ad alto contenuto di grassi (HFD), ad alto contenuto di carboidrati (HCD), ad alto contenuto di proteine (HPD). I risultati emersi hanno mostrato che gli animali alimentati con HFD e HCD presentavano una ridotta espressione di FNDC5/irisina rispetto a quelli alimentati HPD e STD.
Sono state testate anche alcune specifiche sostanze di origine naturale per valutare se avessero correlazione con irisina.

Icariina

Icariina è un flavonoide contenuto in grande quantità nelle piante del genere *Epimedium*. Tali piante vengono sfruttate da tempo nella medicina cinese come tonico, fortificante delle funzioni sessuali e per i suoi effetti anti-aterosclerosi (Zhang *et al.*, 2019).
Recenti studi suggeriscono che parte degli effetti di icariina possano derivare da una stretta correlazione con irisina: Chen *et al.* hanno trattato con icariina una linea cellulare di muscolo scheletrico di topo, differenziato in miotubi. I risultati ottenuti hanno mostrato che icariina ha sovraregolato l'espressione di mRNA per FNDC5 e PGC-1α e ha provocato la fosforilazione di AMPK, il quale sovraregola l'espressione delle proteine mitocondriali di PGC-1α nel tessuto adiposo. In un successivo studio, accanto all'aumentata espressione di Irisina e FNDC5 e alla fosforilazione di AMPK è stato osservato un imbrunimento del tessuto adiposo inguinale e una sovra-espressione di UCP-1, suggerendo un interessante ruolo nella gestione della sindrome metabolica (Chen. *et al.*, 2019).

Acido retinoico

Il trattamento con acido all-trans retinoico (ATRA), un derivato dell'acido retinoico, ha indotto l'espressione di FNDC5 e irisina in colture cellulari di miociti, attraverso meccanismi che coinvolgono l'attivazione di AMPK (Amengual *et al.*, 2018).

I dati sono stati confermati da un notevole aumento dei livelli di irisina in topi trattati con ATRA, oltre che da un aumento della trascrizione del gene FNDC5 nel fegato e nei tessuti adiposi. I risultati, inoltre, suggeriscono un rilascio di irisina dal muscolo scheletrico e fegato e conseguente accumulo in siero, BAT e WAT inguinale, come del resto ci si aspetta da una proteina secreta e destinata ai tessuti adiposi. (Zhang *et al.*, 2014).

Lampone nero

Il lampone nero (*Rubus occidentalis*) è un frutto nativo del Nord America. Già conosciuto per i suoi effetti su cataratta, alopecia, sbiancamento della pelle e attività anti-invecchiamento, sembra essere implicato anche nella perdita di peso e in particolare nell'induzione della produzione di irisina.

Evidenze scientifiche dimostrano che colture cellulari umane trattate con questo prodotto aumentano l'espressione di irisina; in particolare, cellule muscolari scheletriche e adipociti sono stati incubati per un'ora con estratti di diversi frutti: BRE (lampone nero), BBE (mirtillo), RBE (lampone) osservando che tutti gli estratti stimolano significativamente la secrezione di irisina da parte della cellula. Tra i vari estratti, BRE, contenente una grande quantità di delfinidina e attivatore di proteine anti-invecchiamento (sirtuine), ha dimostrato un effetto maggiore (Katsuaki *et al.*, 2018).

L'aumento dei livelli di irisina con integrazione di lampone è sostenuta anche da un ulteriore studio in un modello animale (Xing *et al.*, 2018).

Resveratrolo

Il resveratrolo è un composto polifenolico prodotto da diverse specie vegetali. Evidenze scientifiche mostrano la sua capacità di interagire con l'espressione di alcuni geni, come FNDC5 e UCP-2 (proteina di disaccoppiamento mitocondriale 2). In particolare, è stata riportato che UCP-2 sia in grado di interagire con il tessuto adiposo bruno, oltre che con specie reattive dell'ossigeno (ROS) prodotte dai vari tessuti.

Di conseguenza bevande contenenti resveratrolo, come vino rosso e succo d'uva, potrebbero essere in grado di aumentare l'espressione di UCP-2 e FNDC5, e quindi di irisina, aumentando il dispendio energetico, anche se somministrate in una dieta ricca di grassi (González-Castejón e Rodriguez-Casado, 2011).

Resveratrolo è un noto attivatore della famiglia delle sirtuine e in particolare di SIRT-1.

In precedenti studi, è stato indicato che il resveratrolo è implicato nella termogenesi e nel browning (Andrade *et al.*, 2014), che riduce l'accumulo di grasso e aumenta l'espressione di marcatori della termogenesi come UCP-1 e BMP7.

La molecola è stata testata in uno studio sia su tessuto adiposo animale sia umano. Topi maschi sono stati suddivisi in 4 gruppi e alimentati con: dieta standard, dieta standard + resveratrolo 99% (400 mg/kg), HFD, HFD + resveratrolo (HFD+RSV) per 8 settimane.

Allo stesso tempo 20 volontari di sesso maschile e femminile sono stati suddivisi in due gruppi e trattati per 4 settimane con trans-resveratrolo o placebo. Successivamente sono state prelevate biopsie di tessuto adiposo. I risultati hanno mostrato in tutti i tipi di tessuto un aumento di livelli di UCP-1, PGC1-α, FNDC5, SIRT-1 (proteina che interagisce soprattutto con PGC1-α), quindi un accrescimento dei valori di tutte quelle proteine implicate nell'attivazione di irisina. FNDC5 è stata ridotta dalla dieta HFD rispetto a ST e HFD + RSV, indicando un ruolo importante del resveratrolo sulla modulazione della sua espressione. Il resveratrolo potrebbe essere associato all'attivazione di FNDC5 e quindi di irisina, e dei geni associati al processo di termogenesi, contribuendo ad aumentare il dispendio energetico di tutto il corpo, per ridurre

Foto di Under the same moon...

Il lampone nero (Rubus occidentalis) è un frutto nativo del Nord America. Già conosciuto per i suoi effetti su cataratta, alopecia, sbiancamento della pelle e attività anti-invecchiamento, sembra essere implicato anche nella perdita di peso e in particolare nell'induzione della produzione di irisina.

l'efficienza energetica (Andrade *et al.*, 2019).
I risultati sono stati confermati successivamente in uno studio in cui il resveratrolo è stato in grado di aumentare l'espressione di FNDC5 nei muscoli scheletrici di topi secondo un meccanismo che è ancora da individuare, ma che sicuramente non passa attraverso la metilazione del DNA (Heredia-Lugo *et al.*, 2017).
Uno studio ha mostrato un aumento dell'espressione di mRNA di FNDC5 sia nei muscoli di ratti Wistar trattati con resveratrolo sia in quelli trattati con succo d'uva, suggerendo che oltre al resveratrolo anche il succo di uva sia efficace per modulare il sistema FNDC5/UCP-2 aumentando l'espressione di tali geni.

Genisteina

La genisteina è un isoflavone presente in abbondanza nei semi e nei derivati fermentati della soia; possiede un'azione simile agli estrogeni ed è un ingrediente di molti prodotti anti-invecchiamento. Negli ultimi anni è stato scoperto che potrebbe avere la capacità di indurre il processo di browning.
Un recente studio ha analizzato il legame tra genisteina e irisina sia *in vitro* che *in vivo* su specie murina. La somministrazione di genisteina a topi ha stimolato il processo di imbrunimento, come evidenziato dall'incremento di PGC-1α a livelli raddoppiati nel muscolo scheletrico. Il trattamento dei preadipociti con genisteina ha incrementato anche significativamente la fosforilazione dell'AMPK e questa evidenza conferma che il processo di browning di WAT è in parte mediato dall'attivazione di questa chinasi. Una conseguenza del browning del WAT è un aumento del dispendio energetico, ed è stato infatti dimostrato che il consumo di genisteina ha portato a un incremento nel consumo di ossigeno del 35,7 %, e inoltre nei topi alimentati con tale sostanza si è visto un aumento significativo del dispendio energetico espresso in calore. Infatti, esponendo i topi a un ambiente freddo si attiva maggiormente il processo di termogenesi, e l'alimentazione con genisteina ha significativamente impedito la diminuzione della temperatura corporea rispetto ai controlli, confermando un aumento della termogenesi (Palacios-González *et al.*, 2019).

**** Il presente articolo rielabora la tesi di laurea magistrale in Farmacia svolta dall'autrice presso l'Università di Pisa - Dipartimento di Farmacia, relatori prof. Vincenzo Calderone e prof.ssa Lara Testai.***

Prosegue sul prossimo fascicolo