

Bianco, bruno e beige: diverse sfumature di grasso

MONICA COLITTI, TOMMASO MONTANARI

Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine

Quando la dieta offre più calorie del necessario, esse vengono immagazzinate nel tessuto adiposo. Il vantaggio evolutivo del tessuto adiposo è stato quello di soddisfare la necessità di sopravvivere senza mangiare continuamente, ma oggi che la quantità di cibo disponibile è molto più elevata rispetto al passato, vi è una diffusione epidemica dell'obesità. Secondo recenti dati della World Health Organization, la percentuale di persone adulte sovrappeso in Europa si attesta tra il 32-79% negli uomini e il 28-78% nelle donne e quella delle persone obese tra il 5-23% degli uomini e il 7-36% delle donne (WHO, 2014). Negli adulti, il sovrappeso è definito quando l'indice di massa corporea (BMI) è $\geq 25\text{kg/m}^2$, l'obesità quando il BMI è $\geq 30\text{kg/m}^2$. L'aumento della percentuale di peso nei bambini è un dato allarmante in quanto oltre il 60% dei ragazzi è sovrappeso prima della pubertà. Prevenire l'obesità ed i fattori di rischio ad essa correlati quali la sindrome metabolica, le malattie cardiovascolari, il diabete di tipo 2 e alcune forme di cancro, è diventato un intervento urgente che deve essere attuato attraverso approcci diversi e innovativi. Ovviamente la terapia più comune coinvolge la diminuzione dell'assunzione di cibo e/o l'aumento del consumo di energia, ma da recenti ricerche una delle terapie possibili potrebbe partire proprio dal tessuto adiposo stesso. Ciò riveste importanza anche nel trattamento di pazienti geneticamente predisposti a sviluppare obesità e le conseguenti malattie metaboliche e cardiovascolari. Pertanto, riconsiderando il tessuto adiposo non solo come organo di riserva per lo stoccaggio di substrati altamente energetici, questo lavoro vuole riepilogare le diverse funzioni delle cellule adipose coinvolte in un'ampia gamma di pathways cellulari e porre in luce le nuove e possibili indicazioni nella lotta all'obesità.

IL TESSUTO ADIPOSO

Il tessuto adiposo è un tessuto connettivo ed è pertanto costituito da due componenti principali distinte: le cellule e la matrice extracellulare. Nel tessuto adiposo la prima com-

ponente prevale sulla seconda.

Le cellule adipose sono presenti in tutte le sedi in cui vi sia tessuto connettivo lasso; in determinate regioni gli accumuli di cellule adipose raggiungono un volume tale da sostituire il tessuto lasso, come ad es. nel connettivo sottocutaneo. Un importante accumulo di grasso si trova intorno ai reni, ai visceri e al cuore: l'insieme di questi accumuli va a costituire il cosiddetto grasso viscerale. Accumuli più o meno consistenti di tessuto adiposo si formano anche tra i muscoli e nei sepimenti di connettivo che ne separano i vari fasci, questo grasso è detto interfascicolare. Il tessuto adiposo sottocutaneo interessa l'intera superficie corporea e soprattutto gli strati profondi della pelle. Il grasso è localizzato per il 50% nel pannicolo sottocutaneo, dove svolge una funzione sia coibente che meccanica; per il 45% nella cavità addominale, dove forma il tessuto adiposo viscerale; infine per il 5% nel tessuto muscolare, dove svolge un'azione di aiuto al lavoro muscolare. Gran parte dei depositi viscerali è costituita da grasso mesenterico e omentale; depositi minori, con significato assimilabile al grasso viscerale dell'addome, si trovano in regione epicardica e nel mediastino. Il tessuto adiposo bianco non è molto vascolarizzato e reagisce prontamente ai periodi di minore o maggiore disponibilità alimentare. Si presenta in forma di masserelle e lobi separati da connettivo da cui origina una fittissima rete di fibrille reticolari che circonda ogni cellula adiposa e circonda pure i capillari.

Gli adipociti, cellule completamente differenziate, a loro volta sono distinti in due citotipi fondamentali, ovvero gli adipociti bianchi e bruni, molto diversi tra loro per formazione e funzioni. I due tipi cellulari si organizzano rispettivamente nel tessuto adiposo bianco (WAT, white adipose tissue) e in quello bruno (BAT, brown adipose tissue) (Tabella 1).

Al microscopio ottico le cellule del WAT appaiono come elementi rappresentati per oltre il 90% del loro volume da un'unica goccia lipidica non circondata da membrana (da cui il termine di tessuto adiposo univacuolare), che occupa qua-

si interamente il citoplasma. Sono cellule molto grandi, dal diametro di circa 50-100µm e circondate dalla membrana basale, il cui citoplasma è ridotto a una sottile rima appena visibile (Fig.1A). Il nucleo è schiacciato alla periferia dalla goccia lipidica e solo in questa zona perinucleare il citoplasma risulta un poco più abbondante e visibile. Nel citoplasma sono presenti tutti gli organuli quali mitocondri, apparato del Golgi e reticolo endoplasmatico. La forma sferica rappresenta il miglior modo di accumulare volume nel minimo spazio e consente anche di esportare una notevole massa di molecole energetiche senza scomporre troppo l'anatomia del tessuto: in una sfera, infatti, una minima riduzione di diametro corrisponde a una considerevole riduzione del volume.

Il BAT, nella specie umana, è presente durante la vita fetale e nel neonato, ma è stato recentemente dimostrato attraverso la tomografia a emissione di positroni con fluorodesossiglucosio (FDG PET) combinata con la tomografia computerizzata a raggi X (TC), che nell'uomo adulto esistono aree metabolicamente attive di adipociti bruni positive alla termogenina (uncoupling protein 1 o UCP1) (Virtanen et al., 2009; Gifford et al., 2015) localizzate nelle aree sottocutanee dei muscoli anteriori del collo, nella parete addominale anteriore e nell'inguine; in aree perivascolari a livello di arteria carotide comune, aorta, arteria brachiocefalica e arteria coronaria epicardica; a livello del pericardio e nelle zone connettivali che circondano reni, ghiandole surrenali, pancreas e fegato (Jeremic et al., 2016).

È invece ben sviluppato in alcuni roditori e negli animali ibernanti.

L'organizzazione del BAT è globulare, le cellule sono grandi circa un terzo dell'adipocita bianco (40µm) e presentano nucleo sferico centrale, il citoplasma contiene numerosissime gocce lipidiche ricche di trigliceridi, fosfolipidi, glicolipidi, colesterolo (da cui il nome alternativo di grasso multivacuolare) (Fig.1B). Le caratteristiche principali di questo tessuto adiposo sono la colorazione rosso-brunastra (da cui il nome di grasso 'bruno'), la ricchissima vascolarizzazione e la presenza nelle cellule di molti mitocondri

con abbondanti creste (Cannon e Nedergaard, 2004; Cinti, 2005). Questa particolare morfologia mitocondriale è dovuta alla necessità di avere la massima estensione possibile della membrana mitocondriale interna dove è inserita l'UCP1, la proteina funzionale di queste cellule (Cinti et al., 2001; Klaus et al., 1991). Questa proteina è espressa unicamente in queste cellule ed è responsabile del meccanismo molecolare di produzione di calore da parte dell'adipocita bruno. La proteina è detta 'disaccoppiante' in quanto nei mitocondri del BAT la respirazione cellulare è disaccoppiata dalla sintesi dell'adenosina trifosfato (ATP, adenosine triphosphate), pertanto l'ossidazione degli acidi grassi, anziché ATP, produce calore utile per aumentare, ad es., la temperatura corporea degli animali ibernanti al momento del risveglio. L'UCP1 causa la diffusione di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna portando a una perdita del gradiente elettrochimico che il mitocondrio normalmente usa per produrre ATP (Klingenberg, 1999).

Nonostante gli adipociti bruni da soli costituiscano la maggior parte del volume del tessuto, altri tipi cellulari sono inclusi in esso: cellule endoteliali dei capillari, cellule interstiziali e pre-adipociti che, in condizioni di un'aumentata richiesta di termogenesi, si dividono e si differenziano per formare nuovi adipociti bruni (Prunet-Marcassus et al., 2006). È ampiamente riconosciuto che il BAT gioca un ruolo fisiologicamente dominante nella termogenesi non da brivido, ad es. quando la temperatura corporea sale da un livello estremamente basso durante il risveglio dal letargo (Kitao e Hashimoto, 2012). La termogenesi del BAT è fisiologicamente stimolata dalla noradrenalina (o norepinefrina) rilasciata dalle fibre nervose del sistema simpatico che lo innervano. La trasduzione del segnale della termogenesi avviene principalmente attraverso i recettori β_3 -adrenergici presenti sulla membrana degli adipociti bruni ed è accoppiata all'attivazione dell'adenilato ciclasi (AC, adenylyl cyclase) che porta ad un aumento dei livelli di adenosina monofosfato ciclico (cAMP, cyclic adenosine monophosphate) citosolico (Zhao et al., 1998). L'aumento del cAMP induce l'idrolisi

Tabella 1. Principali differenze morfologiche, funzionali e di espressione genica tra grasso bianco e bruno.

Caratteristiche	Adipociti bianchi	Adipociti bruni
Morfologia	Univacuolare	Multivacuolare (numeroso piccole gocce lipidiche)
	Cellule grandi (fino a 200µm)	40-60µm
Funzioni	Scarsi mitocondri, poche creste allungate	Numerosi mitocondri con tante creste
	Deposito di energia sotto forma di trigliceridi e mobilizzazione degli acidi grassi	Ossidazione e termogenesi
Geni coinvolti nel metabolismo	Secrezione di adipochine (***) ^a	Secrezione di adipochine (*)
	UCP1 (-) ^b	UCP1 (+++)
	UCP2 (++)	UCP2 (+)
	UCP3 (+/-)	UCP3 (+)
	Subunità c della Fo-ATPasi (+)	Subunità c della Fo-ATPasi (+/-)
	Geni della catena respiratoria (+)	Geni della catena respiratoria (+++)
	Enzimi dell'ossidazione degli acidi grassi (+)	Enzimi dell'ossidazione degli acidi grassi (+++)
Glicerolo chinasi (+/-)	Glicerolo chinasi (+++)	

^a *** secrezione alta; * secrezione bassa

^b no (-), espressione molto bassa o incerta (+/-), moderata (++) , alta (+++)

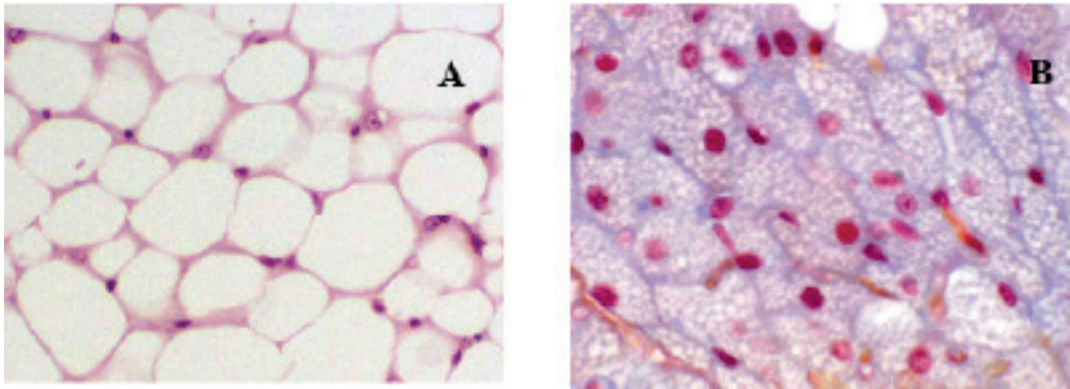


Fig. 1. Struttura del grasso bianco (A, WAT) e bruno (B, BAT). Colorazione ematossilina-eosina. Microscopio ottico, 25x.

delle riserve di trigliceridi attraverso l'attivazione della protein chinasi A (PKA, protein kinase A). Attraverso questo processo, gli acidi grassi vengono liberati e fungono da substrato per l'ossidazione mitocondriale e allo stesso tempo attivano le UCP1 (Cannon e Nedergaard, 2004).

Seale et al. (2008) hanno descritto l'esistenza di due popolazioni di tessuto adiposo bruno: quello "classico" (per es. interscapolare) e quello "reclutabile" sparso tra i depositi di tessuto adiposo bianco. Petrovic e collaboratori (2010) hanno denominato questo terzo tipo cellulare adipociti "brite" ("brown-in-white") o adipociti beige, le cui caratteristiche, proprietà e funzioni sono intermedie fra i due tipi precedentemente descritti. Per comprendere l'origine degli adipociti beige è utile ricordare quella dei bianchi e dei bruni.

DIFFERENZIAMENTO DEL TESSUTO ADIPOSO BIANCO, BRUNO E BEIGE

Il tessuto adiposo deriva dal mesoderma embrionale e condivide con il midollo osseo la presenza di una popolazione di cellule eterogenea che comprende cellule staminali mesenchimali (MSC, mesenchymal stem cells) da cui si sviluppano gli adipociti, ma anche cellule cartilaginee, osso e tessuto muscolare (Pittenger et al., 1999). Una volta che le MSCs sono indirizzate verso la linea adipocitaria, attraverso un processo chiamato "determinazione", esse portano alla formazione di pre-adipociti dall'aspetto simile ai fibroblasti, che hanno la capacità di differenziarsi in adipociti maturi.

In molte specie animali la formazione del WAT comincia nel mesoderma durante la fase media e terminale della vita intrauterina, come morfologicamente evidenziato negli embrioni di uomo, maiale, topo e ratto (Poissonnet et al., 1983; Valet et al., 2002). Dopo la nascita, l'espansione del tessuto adiposo è estremamente rapida e ha come risultato non solo una crescita delle dimensioni cellulari, ma anche del numero delle cellule adipose.

Una volta indotto lo stimolo differenziativo, le cellule sono sottoposte a profondi cambiamenti a livello sia trascrizionale che morfologico (Avram et al., 2007).

La crescita e il differenziamento delle cellule di grasso è controllata dalla comunicazione tra le singole cellule e tra le cellule e l'ambiente extracellulare attraverso una serie di

stadi. Due sono i principali eventi coinvolti: il reclutamento e la proliferazione dei pre-adipociti, seguito dalla fase di differenziamento che li converte in cellule mature dalla forma sferica e in grado di accumulare lipidi. L'adipogenesi avviene nel corso di tutta la vita in risposta sia al normale rinnovamento cellulare che al bisogno di aumentare le riserve di grasso che accade anche quando si eccede al fabbisogno nutrizionale (Gregoire et al., 1998). Si possono distinguere due fasi di crescita del tessuto adiposo: una prima fase caratterizzata da una marcata iperplasia che aumenta il numero delle cellule e una fase adulta in cui il numero di adipociti è apparentemente stabile e compare invece una crescita ipertrofica. L'iperplasia è causata dalla differenziamento dei precursori ad adipociti maturi ed è un processo irreversibile, a differenza dell'ipertrofia. Interessante notare che anche nello stadio adulto persiste il potenziale di generare nuove cellule (Johnson e Francendese, 1985; Avram et al., 2007). Alcuni Autori hanno invece proposto una diversa teoria secondo la quale il tessuto adiposo cresce inizialmente grazie alla combinazione di iperplasia e ipertrofia, poi mentre il numero di cellule raggiunge rapidamente un plateau, l'ipertrofia cellulare continua fino al raggiungimento di un "maximum" di dimensione cellulare (Johnson e Francendese, 1985; Otto e Lane, 2005). Quando il "maximum" viene raggiunto, in accordo con l'ipotesi "della dimensione critica della cellula adiposa" ("critical fat cell size hypothesis"), gli adipociti producono e rilasciano una serie di fattori paracrini che controllano la proliferazione dei pre-adipociti e che quindi sono coinvolti nello sviluppo dell'obesità (Hausman et al., 2001). Questa attivazione è indotta principalmente dal fattore di crescita insulino-simile (IGF, insulin-like growth factor) liberato dagli adipociti ipertrofici e dall'insulina libera, incapace di legarsi allo specifico recettore sull'adipocita. Si ha quindi un'iniziale differenziamento delle cellule staminali verso la formazione di adipoblasti e pre-adipociti ed una successiva attivazione della mitosi delle cellule staminali per ristabilire il numero basale di queste a livello dello stroma (Gregoire et al., 1998). I pre-adipociti reclutati mantengono la loro capacità di crescere, ma devono uscire dal ciclo cellulare prima di essere convertiti in adipociti. L'arresto della crescita è il requisito necessario al differenziamento.

Durante il differenziamento, l'acquisizione del "fenotipo

adipociti” è caratterizzato da cambiamenti nell’espressione di numerosi geni.

CONTROLLO TRASCRIZIONALE DELL’ADIPOGENESI

I diversi passaggi coinvolti nella transizione da pre-adipociti ad adipociti sono principalmente regolati dall’attivazione di una cascata trascrizionale che coinvolge il recettore nucleare PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) e alcuni membri della famiglia delle C/EBPs (CAAT/enhancer binding proteins) (Gregoire et al., 1998; Rangwala e Lazar, 2000; Rosen e Spiegelman, 2000).

Il PPAR γ svolge un importante ruolo fondamentale nell’adipogenesi: è necessario per il differenziamento cellulare e mantiene lo stato differenziativo: infatti la sua eventuale soppressione determina la perdita della capacità di accumulo lipidico e il decremento di marcatori adipogenetici (Elberg et al., 2000). Esistono due forme di PPAR γ (PPAR γ 1 e PPAR γ 2), originate da uno splicing alternativo. Entrambe risultano essere espresse a livello del tessuto adiposo, ma solo la forma 2 costituisce un marcatore specifico di questo tessuto. Oltre alle capacità differenziative, PPAR γ riveste un ruolo nel conferimento dell’insulino-sensibilità cellulare.

La famiglia dei C/EBP comprende 5 membri: C/EBP α , C/EBP β , C/EBP δ , C/EBP γ e CHOP. Essi vengono espressi in tempi diversi durante il differenziamento: i più precoci risultano essere la forma β e δ che, in concerto, promuovono l’espressione di C/EBP α e PPAR γ . C/EBP α è richiesto per l’attuazione di una normale adipogenesi: topi con delezione di questo gene mostrano l’assenza di tessuto adiposo sottocutaneo, perirenale, ed epididimale, ma un normale sviluppo del tessuto adiposo a livello mammario, con ipertrofia del tessuto adiposo bruno (Yeh et al., 1995; Fève, 2005). Nonostante PPAR γ e C/EBP α risultino entrambi necessari per la formazione del tessuto adiposo, il primo sembra rivestire un ruolo dominante: il knocking down di C/EBP α in fibroblasti embrionali murini può essere ripristinato dalla sovraespressione di PPAR γ , ma non si osserva invece l’evento in senso opposto.

Un altro gene coinvolto nella regolazione dell’adipogenesi è la SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein-1c): essa infatti partecipa all’attivazione di geni che regolano il metabolismo degli acidi grassi e del colesterolo. Il suo ruolo è pro-adipogenico in quanto la sua espressione ectopica promuove l’accumulo di lipidi, favorendone la captazione e la biosintesi (Kim e Spiegelman, 1996). Inoltre, SREBP-1c controlla l’espressione di alcuni geni come sintetasi degli acidi grassi (FAS, fatty acid synthetase), lipoprotein lipasi (LPL, lipoprotein lipase) e acetil-coenzima A carbossilasi (ACC, acetyl-coenzyme A carboxylase).

Il solo marcatore universalmente accettato per identificare i preadipociti è il preadipocyte factor 1 (Pref-1 o DLK1). Questo gene è fortemente espresso sia in pre-adipociti bianchi che bruni, ma non in adipociti maturi, in quanto la sua espressione viene enormemente ridotta con l’induzione del differenziamento (Smas e Sul, 1993). Pref-1 viene sintetiz-

zato inizialmente come proteina transmembrana e successivamente subisce un taglio proteolitico producendo una proteina solubile che agisce inibendo l’adipogenesi. La sua espressione deve essere sottoregolata o funzionalmente inattivata affinché il differenziamento possa procedere (Avram et al., 2007). La sovraespressione della proteina in animali da laboratorio ha mostrato una riduzione dell’adipogenesi, mentre la sua soppressione ha dimostrato un accumulo di tessuto adiposo (Gregoire et al., 1998).

L’adipogenesi possiede anche una regolazione negativa, mediata principalmente da alcuni componenti della famiglia di Wnt (Wingless-type MMTV integration site family), che indirettamente interagiscono con fattori trascrizionali appartenenti alla famiglia di TCF/LEF e che inibiscono l’adipogenesi impedendo l’induzione di PPAR γ e C/EBP α (Ross et al., 2000).

Durante l’adipogenesi si osserva anche una trascrizione elevata dei geni che codificano per fatty acid binding protein 4 (aP2/FABP4), proteina in grado di legare acidi grassi; per fatty acid translocase (FAT/CD36) che codifica per un trasportatore degli acidi grassi; e per una proteina associata ai vacuoli lipidici, la perilipina (PLIN1).

Il raggiungimento del fenotipo maturo è correlato anche all’acquisizione della capacità endocrina del tessuto adiposo, vengono infatti prodotte e secrete numerose molecole ad azione autocrina, paracrina e sistemica che partecipano sia alla regolazione del metabolismo che modulando alcune caratteristiche del sistema immunitario.

GRASSO BRUNO E GRASSO BRITTE

Il BAT deriva da un precursore cellulare che può differenziare in cellule muscolari e in cellule adipose brune e che esprime il fattore determinante la miogenesi, Myf5. In effetti, considerando il metabolismo ossidativo del grasso bruno, come pure il suo colore e il contenuto in mitocondri le cellule brune appaiono più simili alle fibre muscolari che agli adipociti bianchi. Il gene proline rich domain-containing protein 16 (PRDM16) è stato identificato come un “interuttore” molecolare tra gli adipociti bruni e i miociti. Infatti, l’espressione ectopica di questo gene in mioblasti induce il differenziamento in adipociti bruni che presentano tutto il corredo necessario alla termogenesi. Quando PRDM16 viene espresso in modo transgenico in adipociti bianchi sottocutanei di topi, grasso bruno compare in quella sede (Seale et al., 2011). PRDM16 stimola la trascrizione di numerosi geni mitocondriali, aumenta l’espressione di UCP1 e diminuisce l’espressione del gene resistina nel grasso bianco; favorisce inoltre la formazione di mitocondri (Wolf, 2009). Ghorbani et al. (1997) hanno dimostrato che alcuni geni del BAT possono essere indotti da PRDM16 anche in assenza del fattore di differenziamento PPAR γ e quindi senza il differenziamento in cellule adipose. Pertanto il destino del grasso bruno sarebbe determinato prima della differenziamento dei pre-adipociti in adipociti bruni maturi.

Il tipo brite invece è Myf5 negativo, ma esprime PRDM16

e il PPAR γ (Seale et al., 2007; Seale et al., 2008). Il grasso brite compare in seguito allo stimolo del freddo o di β_3 agonisti e ha una sua specifica espressione genica; essi possono originare da un distinto precursore non miogenico, diverso da quello del grasso bianco e bruno (Wu et al., 2012; Colitti e Grasso, 2014).

ATTIVAZIONE E RECLUTAMENTO DEL TESSUTO ADIPOSO BRUNO DAL GRASSO BIANCO

L'identificazione di due popolazioni diverse di BAT ("classico" e "reclutabile") comporta che la sua attività funzionale, in diverse condizioni fisiologiche, sia determinata da fattori diversi: gli effetti acuti della noradrenalina, che stimolano la termogenesi attraverso diversi gradi di attività, e la capacità termogenetica totale che dipende dal reclutamento delle cellule adipose.

Nell'attivazione, lo stimolo dei recettori β_3 -adrenergici in seguito all'esposizione al freddo porta a un forte aumento della concentrazione intracellulare di triiodotironina (T3) direttamente o per conversione della tetraiodotironina (T4) mediante iodotironina 5'-deiodinasi di tipo 2 (DIO2). T3 nel nucleo conduce alla trascrizione di UCP1 che porta alla produzione di calore secondo il meccanismo già descritto.

È evidente che la possibilità di trasformazione di cellule di grasso bianco in cellule simili alle cellule adipose brune sotto stimoli ormonali (catecolamine), rilasciati in situazioni stressogene o con basse concentrazioni di glucosio ematico, può avere rilevanti applicazioni terapeutiche per l'obesità e le sindromi ad essa correlate nell'uomo (Seale e Lazar, 2009; Betz e Enerbäck, 2011).

Indipendentemente dal fatto che il BAT presente nell'uomo adulto incida sul totale della spesa energetica giornaliera, la possibilità di aumentare la quantità e/o la funzione di questo tessuto potrebbe essere una terapia efficace e sicura per limitare l'obesità. La sintesi di farmaci o di fattori endogeni che attivano la funzione di PRDM16 o mimano la sua azione potrebbe essere una fattibile cura per l'obesità. Egualmente, ingegnerizzare *ex vivo* adipociti bruni per impianti autologhi potrebbe essere una possibile alternativa. Tuttavia poco si conosce sui possibili meccanismi che potrebbero mantenere l'omeostasi energetica come un aumento di appetito o la generazione di un calore non accettabile (Seale e Lazar, 2009).

IMBRUNIMENTO DEL WAT

Il fenomeno di imbrunimento del WAT può essere indotto da una moltitudine di fattori endogeni, farmacologici e nutrizionali, i quali possono agire direttamente a livello di adipocita, stimolando l'espressione di UCP1 o di geni che ne regolano positivamente la trascrizione, oppure a livello di sistema nervoso centrale (SNC), andando ad influire sulle pathway che possono condurre ad un aumento della stimolazione del simpatico sul tessuto adiposo.

FATTORI FARMACOLOGICI ED ENDOGENI

Numerosi fattori che possono condurre all'imbrunimento del WAT sono raggruppati nella classe degli attivatori del sistema nervoso simpatico (SNS). L'attivazione del SNS stimola, negli adipociti bianchi, i fenomeni di lipolisi e di ossidazione degli acidi grassi ed è inoltre associata alla sovraespressione di geni coinvolti nella funzionalità mitocondriale e nella termogenesi tipica degli adipociti bruni. Tra gli attivatori del simpatico distinguiamo gli agonisti β_3 -adrenergici e i neuropeptidi segnale endogeni.

La somministrazione cronica di agonisti β_3 -adrenergici (come per esempio le molecole sintetiche BRL 26830A, CGP-12177 oppure CL-316243) stimola l'espressione di UCP1 e la comparsa, nelle masse di WAT, di adipociti beige con caratteristiche strutturali estremamente affini a quelle degli adipociti bruni (elevata densità di mitocondri, divisione multiloculare dei depositi lipidici) (Pico et al., 1998). I recettori β_3 della norepinefrina sono presenti esclusivamente nel tessuto adiposo (Cannon e Nedergaard, 2004) e quindi rivestono un ruolo determinante anche nella stimolazione della lipolisi; essi sono diffusi e attivi principalmente nei depositi omentale, mammario e sottocutaneo (Wajchenberg, 2000).

I neuropeptidi più importanti nella stimolazione centrale del sistema simpatico sono la leptina (LEP), il peptide TLQP-21 derivante dal nerve growth factor inducibile (VGF) e il fattore neurotrofico cerebrale (BDNF, brain-derived neurotrophic factor). La leptina è una proteina sintetizzata esclusivamente nel WAT (Wajchenberg, 2000) in risposta a un incremento dell'introduzione di alimenti e la sua produzione è positivamente regolata da diete ricche in carboidrati e lipidi e povere di proteine (Cannon e Nedergaard, 2004). La leptina è attiva a livello centrale, dove stimola una pathway con effetto positivo sui nervi simpatici. Interagendo con i propri recettori nel SNC a livello ipotalamico (nucleo arcuato e nucleo ventromediale), la leptina stimola la produzione di melanocortina (MSH, melanocyte-stimulating hormone) che, a sua volta, interagisce con i recettori di tipo 4. Questa interazione è probabile che dia luogo alla liberazione del fattore di rilascio della corticotropina ipotalamica (CRH, corticotropin releasing hormone), il quale stimola il rilascio di norepinefrina a livello delle sinapsi del simpatico (Cannon e Nedergaard, 2004). Nell'adipocita, la leptina è attiva anche come fattore che regola positivamente la produzione di recettori β_3 -adrenergici; inoltre, l'incubazione *in vitro* di adipociti bianchi in presenza di leptina produce come effetto un aumento della sintesi dei fattori di trascrizione quali il peroxisome proliferator-activated receptor gamma coattivatore 1 α (PGC-1 α) e il PPAR α , che sono fondamentali nell'attivazione della trascrizione di UCP1 e altri geni coinvolti nella termogenesi disaccoppiata (Scarpace e Matheny, 1998; Commins et al., 1999).

Il TLQP-21 e il BDNF sono attivi nella stimolazione dell'espressione di UCP1 e di altri geni chiave selettivamente negli adipociti bianchi piuttosto che in quelli bruni (Barolomucci et al., 2006; Cao et al., 2011, During et al., 2015).

I farmaci attivi sul metabolismo centrale della serotonina possono produrre un effetto di stimolo del SNS. La serotonina prodotta dal nucleo del rafe dorsale è attiva sul nucleo ventromediale, quindi la stimolazione serotoninergica di questa area è coinvolta nel processo di normale reclutamento degli adipociti bruni e, possibilmente, anche nel fenomeno di imbrunimento.

Inoltre, questa pathway serotoninergica è coinvolta nella regolazione della sazietà, per cui si evidenzia un doppio effetto anti-obesità: uno di stimolazione della funzionalità del BAT e uno di riduzione dell'ingestione di alimenti. Studi su topi hanno dimostrato che gli inibitori selettivi del reuptake della serotonina (come ad es. la sibutramina) e i farmaci stimolanti il rilascio centrale di serotonina hanno, quindi, un effetto diretto sulla stimolazione della funzionalità del BAT (Cannon e Nedergaard, 2004).

L'espressione dell'enzima cicloossigenasi 2 (COX2) e la conseguente produzione di prostaglandine nel WAT sono processi chiave nell'espressione di UCP1 a valle della stimolazione adrenergica dell'adipocita. COX2 è stimolata, nel WAT, dall'esposizione cronica al freddo e dalla somministrazione di agonisti β_3 -adrenergici. All'aumento della produzione di prostaglandine negli adipociti bianchi consegue una stimolazione dell'imbrunimento e un aumento del dispendio energetico. Le prostaglandine PGE₂ e PGI₂ agiscono sia attraverso l'attivazione di specifici recettori di membrana accoppiati a proteine G stimolanti che attraverso il legame con i recettori nucleari PPAR, direttamente coinvolti nella trascrizione di UCP1 (Madsen et al., 2010).

I peptidi natriuretici cardiaci sono due ormoni (peptide natriuretico atriale, ANP, e peptide natriuretico ventricolare, BNP) che controllano l'omeostasi dei fluidi e l'emodinamica. Essi abbandonano il torrente circolatorio tramite il recettore C dei peptidi natriuretici (NPRC). In studi su topi in cui il gene per il NPRC è stato disattivato (Lo e Sun, 2013), si è riscontrato che i peptidi natriuretici stimolano l'imbrunimento del WAT attraverso una cascata di trasduzione di segnale parallela a quella indotta dalla norepinefrina: infatti, mentre la stimolazione adrenergica attiva in modo cAMP-dipendente l'enzima PKA, i recettori dei peptidi natriuretici cardiaci sono accoppiati, tramite proteina G stimolante, all'enzima guanilato ciclasi che, producendo guanilil monofosfato ciclico (cGMP, cyclic guanylyl monophosphate), stimola l'enzima protein chinasi G (PKG, protein kinase G) ad attivare le varie pathway di trasduzione del segnale, generalmente attivate da PKA, tra cui la cascata della MAPK p38. L'effetto di questi peptidi è quindi additivo a quello della stimolazione adrenergica (Bordicchia et al., 2012).

L'imbrunimento degli adipociti bianchi può essere anche favorito da ligandi agonisti del PPAR γ (come il rosiglitazone) e del PPAR α (come il bezafibrato). Gli agonisti del PPAR γ stimolano la biogenesi dei mitocondri in una conformazione ricca di creste, la sovraespressione di UCP1 e altri geni coinvolti nel catabolismo lipidico e la multilocularizzazione dei depositi adiposi nell'adipocita bianco. Il meccanismo d'azione di questi ligandi è correlato alla capacità

di PPAR γ di stabilizzare il fattore PRDM16 e indurre l'espressione di PGC-1 α . I ligandi di PPAR α sono attivi nella stimolazione di PRDM16 e di PGC-1 α , nonché nella genesi dei mitocondri e nell'induzione della lipolisi. Inoltre, questi agonisti sono responsabili di un incremento dell'espressione di UCP1 negli adipociti bianchi, ma non in quelli bruni (Cabrero et al., 2001; Sell et al., 2004).

Gli ormoni tiroidei hanno un effetto diretto sull'espressione di UCP1, in quanto l'ormone T3, legandosi ai recettori β degli ormoni tiroidei, interagisce a sua volta con un elemento del promotore del gene UCP1, incrementandone l'espressione (Cannon e Nedergaard, 2004). La stimolazione di UCP1 da parte degli ormoni tiroidei è indipendente dalle pathway attivate dalla norepinefrina e i due percorsi partecipano sinergicamente all'aumento dell'espressione di UCP1. Nonostante ciò, la stimolazione adrenergica partecipa indirettamente alla pathway degli ormoni tiroidei in quanto la norepinefrina attiva l'enzima DIO2, che nell'adipocita converte l'ormone T4 in T3. DIO2 è indotto, quindi, dalla stimolazione adrenergica, mentre è fortemente inibito dal proprio substrato, ovvero T4 (Bonet et al., 2013). Tuttavia, mentre *in vitro* il trattamento con T3 stimola l'attività degli adipociti bruni e l'imbrunimento di quelli bianchi, non ci sono evidenze di tale effetto del trattamento con T3 *in vivo* (Lee et al., 2012).

La molecola 5-aminoimidazolo-4-carbossiamide ribonucleoside (AICAR) è un composto in grado di attivare e prolungare l'azione della protein chinasi attivata dall'AMP (AMPK), un enzima che partecipa all'espressione delle proteine correlate alla funzionalità del BAT e all'imbrunimento del WAT tramite l'attivazione del PGC-1 α attraverso processi di fosforilazione e deacetilazione (Gaidhu et al., 2011).

FATTORI ENDOCRINI MUSCOLARI

Nel processo di imbrunimento del WAT possono essere anche coinvolte le miochine, fattori prodotti e secreti dai muscoli scheletrici; tra queste rivestono notevole importanza l'irisina e l'acido β -aminoisobutirrico (BAIBA).

L'irisina è un peptide che deriva da un taglio proteolitico della proteina fibronectin type 3 domain-containing protein 5 (FNDC5e) il cui rilascio nel sangue è strettamente legato all'espressione di PGC-1 α (Kammoun e Febbraio, 2014). Questa proteina ad azione ormonale è responsabile dei benefici dell'esercizio fisico sulla riduzione del grasso corporeo, in quanto ha un effetto protettivo contro l'obesità indotta dalla dieta e la resistenza all'insulina (Lo e Sun, 2013). L'irisina è selettivamente attiva sulle cellule bianche, quindi l'espressione genica degli adipociti bruni non viene alterata dalla sua azione. Negli adipociti non è stato ancora individuato un recettore selettivo per l'irisina, ma sembra che tale proteina espleti il suo effetto anti-obesità incrementando l'espressione del PPAR α (Boström et al., 2012).

L'acido β -aminoisobutirrico (BAIBA) è una miochina liberata dal muscolo scheletrico all'atto della contrazione del sarcomero. Essa deriva dal metabolismo della valina e del-

la timina e la sua concentrazione cresce proporzionalmente all'espressione di PGC-1 α nel miocita. Il BAIBA circolante produce effetti sugli adipociti bianchi, in quanto ne stimola il fenomeno dell'imbrunimento andando ad attivare l'espressione di proteine quali UCP1 e Cell death activator (CIDEA), e sugli epatociti, nei quali viene stimolato il processo di β -ossidazione degli acidi grassi. Gli effetti del BAIBA quindi possono condurre a un differenziamento di cellule adipose bianche verso una linea brite e a una riduzione del grasso corporeo tramite l'attivazione del metabolismo epatico, che potrebbe avere potenziali benefici nel trattamento della steatosi epatica (Roberts et al., 2014). Il meccanismo d'azione del BAIBA non è stato ancora del tutto spiegato, ma sembra essere dipendente dall'espressione del PPAR α sia negli adipociti che negli epatociti, in quanto studi su topi nei quali il PPAR α è stato antagonizzato farmacologicamente o disattivato a livello genico non sono stati riscontrati i benefici del BAIBA (Kammoun e Febbraio, 2014).

ALTRI FATTORI

Il fattore di crescita dei fibroblasti 21 (FGF21) è una proteina coinvolta nella regolazione del metabolismo epatico dei lipidi, nell'omeostasi della glicemia e nella funzionalità delle cellule β del pancreas. Viene sintetizzato prevalentemente dal fegato, ma in risposta all'esposizione alle basse temperature e alla stimolazione β -adrenergica è espresso anche nei depositi di BAT e negli adipociti bianchi in via di imbrunimento. Il meccanismo d'azione del FGF21 è strettamente dipendente dall'espressione del PGC-1 α ed incide direttamente sull'espressione del PGC-1 α stesso e dell'UCP1 (Lo e Sun, 2013). Inoltre, i suoi effetti sono più marcati nei depositi sottocutanei di WAT (Fisher et al., 2012). L'espressione di FGF21 è up-regolata non solo nel WAT sensibile all'imbrunimento, ma anche nei muscoli scheletrici e è presente nel siero; ciò suggerisce un ruolo sistemico di FGF21 nella regolazione dell'omeostasi energetica (Lo e Sun, 2013).

Nella classe dei fattori morfogenetici dell'osso, il membro 7 (BMP7, bone morphogenetic protein 7) è strettamente necessario allo sviluppo e al corretto funzionamento del BAT, in quanto è necessario per il reclutamento di cellule staminali mesenchimali verso la linea di adipociti bruni (Lo e Sun, 2013). Esso infatti influisce sull'espressione di PRDM16, UCP1 e PGC-1 α e stimola la genesi dei mitocondri tramite pathways dipendenti dal PGC-1 α stesso, dalla MAPK p38 e da ATF-2 (activating transcription factor 2). I risultati riguardanti l'effetto del BMP7 circa l'imbrunimento del WAT sono discordanti, in quanto alcuni Autori hanno riscontrato un aumento della funzionalità del BAT, ma nessun fenomeno di imbrunimento di adipociti bianchi, mentre altri Autori hanno osservato un effetto sinergico dell'attività del BMP7 sulla stimolazione β -adrenergica nell'induzione dell'imbrunimento del WAT (Bonet et al., 2013). In ulteriori studi invece è stato evidenziato come l'ablazione del gene codificante per il recettore del BMP7 porti a una riduzione del BAT, ma

ciò innesca dei meccanismi compensativi di imbrunimento del WAT (Lo e Sun, 2013; Schulz et al., 2013).

FATTORI NUTRIZIONALI

Le abitudini alimentari rivestono un ruolo cruciale nello sviluppo del tessuto adiposo in ogni fase della vita di un organismo. La suscettibilità di un animale a sviluppare obesità e altre dismetabolie, tra cui spicca il diabete mellito e la sindrome metabolica, può essere determinata prima della nascita. Infatti, lo stato nutrizionale della madre incide sulla programmazione delle cellule che daranno origine, nella prole, agli adipociti bianchi, bruni e brite. In particolare, episodi di malnutrizione della madre durante la gravidanza incrementano il rischio dell'insorgenza di obesità e diabete nell'età adulta della prole. Ciò è provocato da un'alterazione della funzionalità endocrina degli adipociti e da una diminuzione dell'innervazione simpatica delle aree adipose, favorendo l'ipercellularità e l'accumulo, anche ectopico, di lipidi (Palou et al., 2013). Un altro fattore di rischio potenzialmente coinvolto in questo meccanismo è la sensibilità dell'animale in età neonatale allo sviluppo della resistenza alla leptina. In questa fase della vita, la leptina presente nell'animale deriva da fonti che sono più importanti della produzione endogena, quali il trasferimento placentare dalla madre durante la gestazione e l'assunzione di leptina attraverso il latte materno. Pertanto l'alimentazione della madre riveste un ruolo cruciale nella sensibilizzazione della prole allo sviluppo dell'obesità. Nel neonato, esiste un preciso momento in cui si ha un picco plasmatico di leptina che determina il corretto sviluppo dei circuiti ipotalamici che regoleranno per tutta la vita l'assunzione di cibo e il controllo del peso corporeo. Un'alterazione di questo picco ha conseguenze deleterie sul metabolismo dell'animale in età adulta, in quanto viene estremamente ridotto il livello di recettori ipotalamici per la leptina e l'insulina (Palou et al., 2013).

Per quanto concerne il ruolo della dieta nell'imbrunimento del WAT in età adulta, è possibile riscontrare un effetto diretto sul trascrittoma dell'adipocita bianco sia della composizione della dieta che della presenza di particolari molecole nelle matrici alimentari (Colitti e Grasso, 2014).

La riduzione dell'apporto di alcuni aminoacidi essenziali, come la metionina e la leucina, ha come conseguenza una riduzione del grasso addominale, l'attivazione del catabolismo dei lipidi nel BAT e l'aumento dell'espressione di UCP1 negli adipociti bianchi. Questi effetti sono prodotti da meccanismi d'azione diversi: la riduzione di metionina porta ad un aumento della stimolazione β_3 -adrenergica degli adipociti, mentre un limitato apporto di leucina induce un aumento della secrezione di CRH (corticotropin-releasing hormone, ormone rilasciante la corticotropina) da parte dell'ipotalamo che stimola la risposta simpatica (Hasek et al., 2010; Cheng et al., 2011).

Diete ricche di lipidi e povere di proteine stimolano l'espressione di UCP1 nel BAT e potenziano il signaling della leptina, innescando un feedback positivo sulla funzionalità

degli adipociti bruni. Nel WAT, invece, l'espressione di UCP1 è repressa con differenze specie-specifiche (Cannon e Nedergaard, 2004, Bonet et al., 2013).

La vitamina A è coinvolta nei processi di imbrunimento del WAT e di attivazione e reclutamento di adipociti bruni mediante le sue diverse forme quali l'acido all-trans retinoico e la retinaldeide. Il primo di essi ha potenti effetti sul metabolismo degli acidi grassi, in quanto attiva la lipolisi e il tasso di ossidazione degli acidi grassi liberi, portando a una riduzione del contenuto lipidico degli adipociti; ovviamente viene anche influenzata l'espressione genica delle proteine interessate in questi metabolismi (inclusa la UCP1), che risultano essere sovraesprese. La retinaldeide può espletare queste funzioni sia previa conversione in acido all-trans retinoico che in assenza di modificazioni strutturali. L'azione stimolante della retinaldeide è sinergica a quella dell'acido all-trans retinoico.

Paradossalmente il β -carotene, che è il precursore naturale degli analoghi della vitamina A, ha un effetto opposto a quello dei retinoidi sul metabolismo dei lipidi negli adipociti, in quanto favorisce l'ipertrofia degli adipociti bianchi e la regressione di quelli bruni e brite (Bonet et al., 2003; Kiefer et al., 2012).

La capsaicina è una delle molecole responsabili del sapore piccante del peperoncino; i suoi analoghi non piccanti rientrano nella famiglia dei capsinoidi. Sia la capsaicina che i capsinoidi sono composti anti-obesità con effetto agonista sulla norepinefrina. Essi infatti, oltre a stimolare il rilascio di catecolamine dalle ghiandole surrenali, si legano a dei recettori specifici presenti nel WAT e nel tratto gastrointestinale, i TRPV1 (transient receptor potential vanilloid type-1). L'attivazione di questi recettori favorisce la termogenesi attraverso la stimolazione dell'innervazione vagale afferente e di quella simpatica efferente (Zhang et al., 2007; Yoneshiro et al., 2012).

La fucoxantina è un carotenoide delle alghe brune dotato di effetto anti-obesità. L'accumulo dei suoi metaboliti nel WAT stimola l'imbrunimento degli adipociti bianchi attraverso l'attivazione di UCP1 e di altri geni correlati al catabolismo dei lipidi e l'aumento della sensibilità degli adipociti alla stimolazione simpatica. L'effetto è specifico sugli adipociti bianchi, in quanto le cellule del BAT non vedono alterata l'espressione dei propri geni (Maeda et al., 2005).

Il consumo di olio d'oliva aumenta il consumo di ossigeno complessivo dell'organismo e l'espressione delle isoforme di UCP nei diversi tessuti, compreso il grasso. Nello specifico, i composti dell'olio d'oliva attivamente coinvolti nella funzionalità degli adipociti e nel processo di imbrunimento sono l'oleuropeina e l'acido oleico. L'oleuropeina aumenta l'espressione di UCP1 negli adipociti bruni e la secrezione di catecolamine (Oi-Kano et al., 2008). L'acido oleico contribuisce moderatamente alla riduzione del peso corporeo e dell'assunzione di alimenti, senza però influire sull'espressione di UCP1 nei vari tipi di adipocita. L'acido 2-idrossioleico è un derivato sintetico dell'acido oleico e, rispetto a quest'ultimo, è più attivo nella riduzione del peso corporeo

e, inoltre, contribuisce all'aumento dell'espressione di UCP1 negli adipociti bianchi, favorendone l'imbrunimento. Questo effetto è ottenuto tramite il potenziamento della pathway del cAMP/PKA (Oi-Kano et al., 2007; Vogler et al., 2008).

L'idrolisato di proteine del salmone (SPH, salmon protein hydrolysate) è una fonte di proteine ricche in glicina e taurina che aumenta il livello plasmatico di acidi biliari, i quali contribuiscono a migliorare la resistenza all'obesità derivata da una dieta iperlipidica. Gli acidi biliari aumentano l'espressione di diversi geni coinvolti nel metabolismo lipidico e nella funzionalità del BAT, compresi UCP1 e DIO2, sia negli adipociti bianchi che in quelli bruni. L'azione di questi composti si espleta tramite l'attivazione di un recettore di membrana (TGR5) accoppiato a proteina G e all'enzima adenilato ciclasi che, a sua volta, attiva le numerose pathway di trasduzione del segnale. Questi segnali regolano l'espressione di UCP1 e altri geni coinvolti nel disaccoppiamento e nell'imbrunimento del WAT (Liaset et al., 2011).

I coniugati dell'acido linoleico sono in grado di ridurre il peso corporeo e la massa di tessuto adiposo; tra questi, la molecola più attiva è l'isomero trans-10, cis-12 dell'acido linoleico. Tra gli effetti di queste molecole si osservano: aumento dell'apoptosi degli adipociti bianchi, calo della lipogenesi e del differenziamento dei pre-adipociti e incremento dell'ossidazione degli acidi grassi. Inoltre, si sono osservati marcati effetti anche sull'espressione di UCP1 nel WAT (ma non nel BAT) e di geni correlati ad un fenotipo ossidativo. L'azione dei coniugati dell'acido linoleico è indipendente dalla stimolazione β_3 -adrenergica degli adipociti (House et al., 2005).

Il resveratrolo è un polifenolo che ha la capacità di attivare l'AMPK andando ad interferire sulla respirazione cellulare, provocando un disequilibrio tra AMP e ATP. Anche altri geni a valle di AMPK sono attivati dal resveratrolo (Lagouge et al., 2006) e l'effetto globale di questa stimolazione è un aumento della resistenza all'obesità e all'insorgenza del diabete. Nel WAT viene inibita l'adipogenesi e aumenta l'espressione della lipasi (con un conseguente aumento della mobilitazione degli acidi grassi) e la modulazione del PPAR γ (Alberdi et al., 2011).

Tra gli acidi grassi essenziali omega 3, i più importanti sono l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaeico (DHA). La loro azione anti-obesità si riflette in una modulazione del metabolismo in diversi tessuti, incluso il BAT, nel quale viene incrementata l'espressione di UCP1. A livello di WAT si assiste invece ad un aumento della stimolazione della β -ossidazione degli acidi grassi e dell'espressione dei geni coinvolti nelle pathway ossidative mitocondriali. In seguito alla somministrazione di EPA e DHA, nel grasso bianco si ha la sovraespressione del gene PGC-1 α ; tuttavia, l'espressione di UCP1 non viene direttamente influenzata negli adipociti bianchi dagli acidi grassi essenziali. La modulazione dell'espressione genica indotta dagli acidi omega 3 è mediata dall'interazione diretta con gli adipociti e dal loro legame con i fattori di trascrizione del gruppo PPAR. Gli effetti di queste molecole, infatti, sono

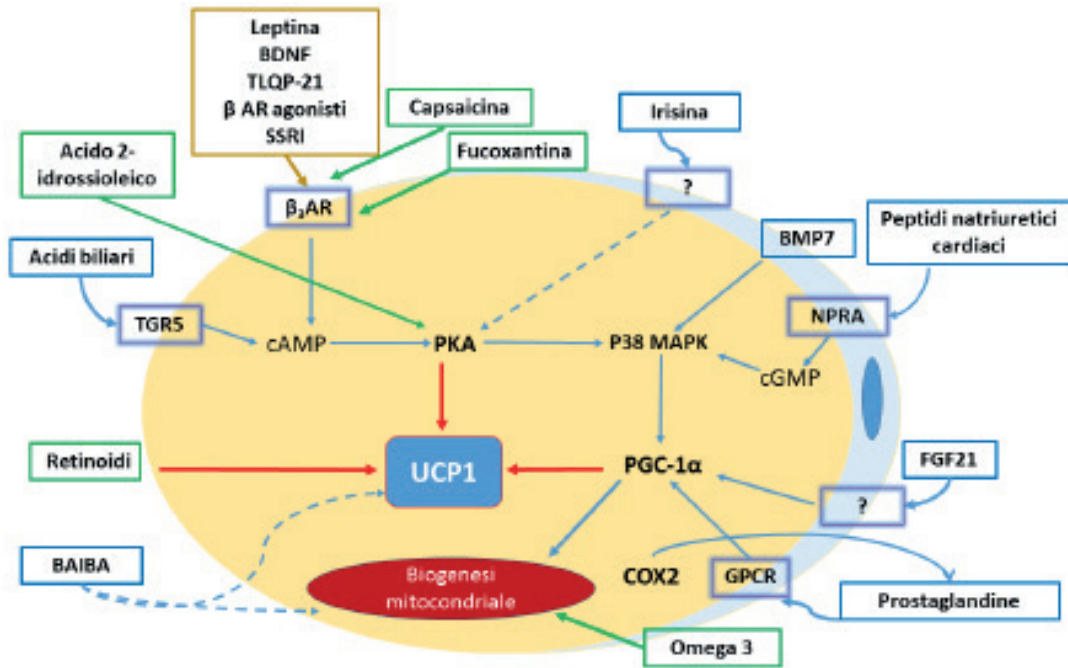


Fig. 2. Segnali endogeni (riquadro marrone), fattori endocrini (riquadro azzurro), fattori nutritivi (riquadro verde) e recettori (riquadro viola ombreggiato) che stimolano la trasformazione dell'adipocita bianco in beige (BDNF: fattore neurotrofico cerebrale; TLQP-21: peptide 21 derivante dal VGF; β_2 AR: recettore β_2 -adrenergico; SSRI: inibitori selettivi del reuptake della serotonina; BMP7: fattore morfogenetico dell'osso 7; NPRA: recettore A dei peptidi natriuretici cardiaci; FGF21: fattore di crescita dei fibroblasti 21; GPCR: recettore accoppiato a proteina G; BAIBA: acido β -aminoisobutirrico; TGR5: recettore accoppiato a proteina G specifico per gli acidi biliari; cAMP: adenosina monofosfato ciclica; PKA: protein chinasi A; p38 MAPK: protein chinasi p38 attivata da mitogeni; cGMP: guanosina monofosfato ciclica; PGC-1 α : coattivatore 1 α del PPAR γ ; UCP1: proteina disaccoppiante 1; COX2: cicloossigenasi 2).

molto simili a quelli indotti dalla somministrazione di agonisti farmacologici del PPAR α e del PPAR γ (Buckley e Howe, 2010).

Un altro fattore nutrizionale di interesse è la polvere della conchiglia di capasanta, o pettine di mare, la quale è composta per il 98-99% da carbonato di calcio, mentre per l'1-2% da composti organici, specialmente complessi glicoproteici. Questa frazione organica della polvere stimola la lipolisi e regola l'espressione di UCP1 negli adipociti bianchi, ma non in quelli bruni (Liu et al., 2006).

Le diverse pathways cellulari che comportano l'imbrunimento del WAT sono riassunte in Figura 2.

TESSUTO ADIPOSO BIANCO COME ORGANO ENDOCRINO

Alla funzione di serbatoio di substrati ad alto valore energetico come colesterolo, trigliceridi e vitamine liposolubili, al tessuto adiposo è stata affiancata la funzione di organo endocrino in grado di rilasciare una serie di sostanze di bioattive note come adipochine. Esse si associano al ruolo dell'adipocita nell'omeostasi energetica e contribuiscono a determinare le maggiori complicanze che accompagnano l'obesità (Trayhurn e Beattie, 2001).

Oltre alla nota leptina, l'adiponectina è uno dei geni più attivamente espressi negli adipociti maturi, rilevata in quantità significativamente maggiori nel grasso sottocutaneo rispetto a quello viscerale (Fain et al., 2004). E' stato messo in luce che la funzionalità mitocondriale delle cellule adipose

sia essenziale per la sintesi e la secrezione dell'adiponectina. L'ormone viene rilasciato nel circolo sanguigno e rappresenta circa il 0,01% di tutte le proteine del siero (Berg et al., 2002). I suoi effetti biologici però non dipendono solamente dalle relative concentrazioni in circolo, ma anche dall'espressione tessuto-specifica dei suoi recettori (Fischer-Posovszky et al., 2007): AdipoR1 e AdipoR2 (Yamauchi et al., 2003). L'adiponectina circolante sensibilizza l'organismo all'insulina stimolando la fosforilazione e l'attivazione della proteina chinasi attivata da AMP ciclico che regola il metabolismo energetico. I suoi livelli circolanti sono ridotti nell'obesità a differenza delle altre adipochine.

Alti livelli di adiponectina sono presenti in individui magri, mentre la sua espressione è sottoregolata in adipociti non funzionali come in organismi obesi (Ouchi et al., 2011).

La proteina legante il retinolo (RBP4) è una proteina specifica per il trasporto in circolo del retinolo (vitamina A) e livelli plasmatici elevati sono stati osservati in diversi modelli animali di obesità ed insulino-resistenza (Abel et al., 2001).

La visfatina, originariamente identificata nel grasso viscerale come pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF) prodotto dal midollo osseo, dal fegato e dal muscolo, sembra essere specifica dei depositi adiposi addominali, infatti la sua concentrazione plasmatica è correlata con il grado di obesità addominale (Fukuhara et al., 2005). Questo ormone è sovra-regolato durante la differenziazione adipogenica e i suoi livelli plasmatici aumentano durante lo sviluppo dell'obesità.

La visfatina ha effetti simili a quelli dell'insulina in cellule in coltura e pare attivi il recettore insulinico legandolo in un

punto distinto da quello dell'insulina. L'effetto si tradurrebbe come un'attivazione delle pathways regolate dall'insulina attraverso un nuovo meccanismo di sensibilizzazione.

Il tessuto adiposo è importante sede di produzione di angiotensinogeno e di angiotensina II. Livelli più elevati di mRNA per l'angiotensinogeno sono rilevabili nel tessuto adiposo di soggetti obesi in confronto a quello di soggetti normopeso, ed è rilevabile una correlazione positiva tra BMI e concentrazioni circolanti di angiotensinogeno (Van Harmelen et al., 2000). L'angiotensina II è noto essere un potente vasocostrittore e il rischio di ipertensione aumenta con il BMI. Si è dunque assunto che l'aumentata sintesi di angiotensinogeno possa contribuire all'ipertensione che così frequentemente si associa all'obesità. Inoltre, l'angiotensina II sembra esercitare effetti proinfiammatori nell'adipocita stimolando la produzione e secrezione di PAI-1, leptina, IL-6, IL-8, e lo stress ossidativo (Skurk et al., 2004).

L'11-idrossisteroidodeidrogenasi (11-HSD) è un enzima che amplifica l'azione locale dei glucocorticoidi, facilitando la conversione del cortisone inattivo a cortisolo. L'enzima è ben espresso nel tessuto adiposo umano, con attività maggiore nel tessuto omentale rispetto a quello sottocutaneo (Bujalska et al., 1999). L'aumentata attività di 11-HSD, che si osserva nell'obesità umana, si associa all'espansione del tessuto adiposo viscerale dovuta ad ipertrofia adipocitaria. Questo potrebbe essere uno dei meccanismi di reclutamento di nuovi adipociti; l'enzima, infatti, stimola il differenziamento degli adipociti grazie all'attività paracrina del cortisolo. Elevati livelli di 11-HSD determinano un aumento della concentrazione locale di cortisolo, che stimola la lipasi lipoproteica e la lipasi ormono-sensibile del tessuto adiposo con rilascio di acidi grassi liberi, contribuendo in parte all'alterato profilo metabolico e dell'insulino-resistenza propri dell'obesità addominale (Bittolo-Bon, 2008).

L'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) inibisce la produzione di plasmina e ostacola gli eventi da essa mediati come la fibrinolisi e la degradazione della matrice extracellulare. La maggiore sorgente di PAI-1 nelle persone obese è il tessuto adiposo e i livelli circolanti di PAI-1 correlano con il grado di obesità addominale.

Gli adipociti sono in grado di secernere citochine anche se è stato dimostrato che le maggiori sorgenti di citochine nello stesso tessuto adiposo sono i macrofagi (Ouchi et al., 2011). Un sovraccarico di lipidi negli adipociti può iniziare uno stato di stress cellulare e un'attivazione delle vie di segnale dell'infiammazione, la quale porta a un'aumentata produzione di citochine proinfiammatorie adipocitarie quali le interleuchine 1, 6, 8, 10 (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10), incluso il fattore di necrosi tumorale α (TNF- α), e molecole chemoattrattive, come la proteina chemoattrattiva monocitaria di tipo 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1), il fattore inibitorio della migrazione macrofagica e l'interferone γ (Chung et al., 2006; Shoelson et al., 2006). E' ormai noto, infatti, che l'obesità corrisponde ad uno stato di infiammazione di basso grado e che il tessuto adiposo viscerale è la sede patogenetica di molti dei disturbi correlati all'obesità

(Ouchi et al., 2011). L'infiltrazione monocitaria nel tessuto adiposo amplifica il processo flogistico ed è positivamente correlata con l'aumento del BMI.

La resistina è un membro della famiglia delle molecole ricche di cisteina ed è associata all'attivazione dei processi infiammatori. Benché studi su animali modello dimostrino che la resistina promuova la resistenza all'insulina, tale evidenza nell'uomo è ancora poco chiara. Nel topo viene sintetizzata negli adipociti, mentre nell'uomo è prodotta principalmente dai macrofagi e monociti e non è misurabile negli adipociti. Nell'uomo la trascrizione del gene della resistina nei globuli bianchi mononucleari è indotta dalle citochine pro-infiammatorie (Steppan et al., 2001; Ouchi et al., 2011).

Il BDNF fa parte della famiglia delle neurotrofine che include anche il nerve growth factor (NGF), la neurotrofina-3 (NT-3) e la neurotrofina-4/5 (NT-4/5). Il BDNF è diffuso sia a livello centrale che periferico. Sul sistema nervoso promuove lo sviluppo e il differenziamento neuronale, la modulazione della connessione sinaptica e la regolazione dei fenomeni di riparazione neuronale. Inoltre, il BDNF può modulare l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisario (HPA), regolando il metabolismo energetico, il comportamento alimentare e quindi l'obesità (Noble et al., 2011). A livello ipotalamico l'espressione del BDNF è positivamente regolata dalla leptina, la cui secrezione invece viene inibita nell'adipocita dal BDNF (Cao et al., 2010). A livello periferico è stato identificato in diversi tessuti tra i quali il tessuto adiposo dove sembra svolgere un ruolo paracrina/autocrino nell'omeostasi del metabolismo lipidico (Chaldakov et al., 2009; Colitti et al., 2015).

CONCLUSIONI

Il ruolo di "riserva" del tessuto adiposo, unito al monotono aspetto morfologico tissutale e all'assenza del riconoscimento di una sede anatomicamente definita del tessuto, sono stati tra i motivi che hanno contribuito a far sì che in passato gli studi sul tessuto adiposo fossero molto scarsi.

La scoperta della leptina nel 1994 ha avuto il merito di portare il tessuto adiposo in primo piano e di considerarlo non solo come un organo di riserva energetica, ma addirittura come un importante organo endocrino capace di interagire direttamente con centri encefalici.

Inoltre, le più recenti evidenze che descrivono nell'uomo adulto aree di grasso bruno attive nella termogenesi e nel metabolismo ossidativo disaccoppiato alla produzione di energia e la possibilità di indurre l'imbrunimento del grasso bianco attraverso un'adeguata stimolazione, hanno aperto nuove prospettive terapeutiche per il trattamento dell'obesità e delle sue complicanze. Le attuali ricerche sono pertanto volte a identificare i fattori endogeni ed esogeni coinvolti in questo processo. Tra essi si annoverano fattori ormonali di origine nervosa e muscolare, farmaci attivi a molteplici livelli tra il sistema nervoso centrale e quello periferico, e molecole nutrizionali che possono espletare effetti analoghi a quelli dei farmaci regolando la sintesi delle proteine tipiche

del grasso bruno.

La futura ricerca scientifica sarà volta a chiarire i meccanismi di azione dei vari fattori e, in base a tali conoscenze, implementare strategie terapeutiche innovative che possono contribuire a contenere la diffusione epidemica dell'obesità nel mondo e a ridurre la frequenza di mortalità associata alle dismetabolie e alle malattie cardiovascolari associate ad essa.

BIBLIOGRAFIA

Abel E.D., Peroni O., Kim J.K., Kim Y.B., Boss O., Hadro E., Minnemann T., Shulman G.I., Kahn B.B. (2001). Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature*. 409(6821):729-733.

Alberdi G., Rodriguez V.M., Miranda J., Macarulla M.T., Arias N., Andres-Lacueva C., Portillo M.P. (2011). Changes in white adipose tissue metabolism induced by resveratrol in rats. *Nutr. Metab. (Lond.)*. 8(1):29.

Avram M.M., Avram A.S., James W.D. (2007). Subcutaneous fat in normal and diseased states 3. Adipogenesis: from stem cell to fat cell. *J. Am. Acad. Dermatol.* 56(3):472-492.

Bartolomucci A., La Corte G., Possenti R., Locatelli V., Rigamonti A.E., Torsello A., Bresciani E., Bulgarelli I., Rizzi R., Pavone F., D'Amato F.R., Severini C., Mignogna G., Giorgi A., Schinina M.E., Elia G., Brancia C., Ferri G.L., Conti R., Ciani B., Pascucci T., Dell'Omo G., Muller E.E., Levi A., Moles A. (2006). TLQP-21, a VGF-derived peptide, increases energy expenditure and prevents the early phase of diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103(39):14584-14589.

Berg A.H., Combs T.P., Scherer P.E. (2002). ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* 13(2):84-89.

Betz M.J., Enerbäck S. (2011). Therapeutic prospects of metabolically active brown adipose tissue in humans. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2:86.

Bittolo-Bon G. (2008) Il tessuto adiposo come organo multifunzionale. *G. Ital. Cardiol.*, 9:23-28.

Bonet M.L., Ribot J., Felipe F., Palou A. (2003). Vitamin A and the regulation of fat reserves. *Cell Mol. Life Sci.* 60(7):1311-1321.

Bonet M.L., Oliver P., Palou A. (2013). Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *Biochem. Biophys. Acta* 1831(5):969-985.

Bordicchia M., Liu D., Amri E.Z., Ailhaud G., Dessì-Fulgheri P., Zhang C., Takahashi N., Sarzani R., Collins S. (2012). Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *J. Clin. Invest.* 122(3):1022-1036.

Boström P., Wu J., Jedrychowski M.P., Korde A., Ye L., Lo J.C., Rasbach K.A., Boström E.A., Choi J.H., Long J.Z., Kajimura S., Zingaretti M.C., Vind B.F., Tu H., Cinti S., Hojlund K., Gygi S.P., Spiegelman B.M. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*.

481(7382):463-468.

Buckley J.D., Howe P.R. (2010). Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids may be beneficial for reducing obesity – a review. *Nutrients*. 2(12):1212-1230.

Bujalska I.J., Kumar S., Hewison M., Stewart P.M. (1999). Differentiation of adipose stromal cells: the roles of glucocorticoids and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Endocrinology*. 140(7):3188-3196.

Cabrero A., Alegret M., Sanchez R.M., Adzet T., Laguna J.C., Vazquez M. (2001). Bezafibrate reduces mRNA levels of adipocyte markers and increase fatty acid oxidation in primary culture of adipocytes. *Diabetes* 50(8):1883-1890.

Cannon B., Nedergaard J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.* 84(1):277-359.

Cao L., Choi E.Y., Liu X., Martin A., Wang C., Xu X., Durning M.J. (2011). White to brown fat phenotypic switch induced by genetic and environmental activation of a hypothalamic-adipocyte axis. *Cell Metab.* 14(3):324-338.

Chaldakov G.N., Tonchev A.B., Aloe L. (2009). NGF and BDNF: from nerves to adipose tissue, from neurokinines to metabokines. *Riv Psichiatr.* 44(2):79-87.

Cheng Y., Zhang Q., Meng Q., Xia T., Huang Z., Wang C., Liu B., Chen S., Xiao F., Du Y., Guo F. (2011). Leucine deprivation stimulates fat loss via increasing CRH expression in the hypothalamus and activating the sympathetic nervous system. *Mol. Endocrinol.* 25(9):1624-1635.

Chung S., Lapoint K., Martinez K., Kennedy A., Boysen Sandberg M., McIntosh M.K. (2006). Preadipocytes mediate lipopolysaccharide-induced inflammation and insulin resistance in primary cultures of newly differentiated human adipocytes. *Endocrinology*. 147(11):5340-5351.

Cinti S. (2001). The adipose organ: endocrine aspects and insights from transgenic models. *Eat Weight Disord.* 6:4-8.

Cinti S. (2005). The adipose organ. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 73(1):9-15.

Colitti M., Grasso S. (2014). Nutraceuticals and regulation of adipocyte life: premises or promises. *Biofactors*. 40(4):398-418.

Colitti M., Looor J.J., Stefanon B. (2015). Expression of NGF, BDNF and their receptors in subcutaneous adipose tissue of lactating cows. *Res. Vet. Sci.*, 102:196-199.

Commins S.P., Watson P.M., Padgett M.A., Dudley A., Argyropoulos G., Gettys T.W. (1999). Induction of uncoupling protein expression in brown and white adipose tissue by leptin. *Endocrinology*. 140(1):292-300.

Durning M.J., Liu X., Huang W., Magee D., Slater A., McMurphy T., Wang C., Cao L. (2015). Adipose VEGF links the white-to-brown switch with environmental, genetic, and pharmacological stimuli in male mice. *Endocrinology*. 156(6):2059-2073.

Elberg G., Gimble J.M., Tsai S.Y. (2000). Modulation of the murine peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 promoter activity by CCAAT/enhancer binding proteins. *J. Biol. Chem.* 275:27815-27822.

Fain J.N., Madan A.K., Hiler M.L., Cheema P., Bahouth

S.W. (2004). Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology*, 145(5):2273-2282.

Fève B. (2005). Adipogenesis: cellular and molecular aspects. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 19(4):483-499.

Fischer-Posovszky P., Wabitsch M., Hochberg Z. (2007). Endocrinology of adipose tissue - an update. *Horm. Metab. Res.* 39(5):314-321.

Fisher F.M., Kleiner S., Douris N., Fox E.C., Mepani R.J., Verdeguer F., Wu J., Kharitonov A., Flier J.S., Maratos-Flier E., Spiegelman B.M. (2012). FGF21 regulates PGC-1 α and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev.* 26(3):271-281.

Fukuhara A., Matsuda M., Nishizawa M., Segawa K., Tanaka M., Kishimoto K., Matsuki Y., Murakami M., Ichisaka T., Murakami H., Watanabe E., Takagi T., Akiyoshi M., Ohtsubo T., Kihara S., Yamashita S., Makishima M., Funahashi T., Yamanaka S., Hiramatsu R., Matsuzawa Y., Shimomura I. (2005). Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*, 307(5708):426-430.

Gaidhu M.P., Frontini A., Hung S., Pistor K., Cinti S., Ceddia R.B. (2011). Chronic AMP-kinase activation with AICAR reduces adiposity by remodelling adipocyte metabolism and increasing leptin sensitivity. *J. Lipid Res.* 52:1702-1711.

Ghorbani M., Claus T.H., Himms-Hagen J. (1997). Hypertrophy of brown adipocytes in brown and white adipose tissues and reversal of diet-induced obesity in rats treated with β_3 -adrenoceptor agonist. *Biochem. Pharmacol.* 54(1):121-131.

Gifford A., Towse T.F., Walker R.C., Avison M.J., Welch E.B. (2015). Human brown adipose tissue depots automatically segmented by positron emission tomography/computed tomography and registered magnetic resonance images. *J. Vis Exp.* 18;(96).

Gregoire F.M., Smas C.M., Sul H.S. (1998). Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.* 78(3):783-809.

Hasek B.E., Stewart L.K., Henagan T.M., Boudreau A., Lenard N.R., Black C., Shin J., Huypens P., Malloy V.L., Plaisance E.P., Krajcik R.A., Orentreich N., Gettys T.W. (2010). Dietary methionine restriction enhances metabolic flexibility and increases uncoupled respiration in both fed and fasted states. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 299:R728-R739.

Hausman D.B., DiGirolamo M., Bartness T.J., Hausman G.J., Martin R.J. (2001). The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev.* 2(4):239-254.

House R.L., Cassady J.P., Eisen E.J., McIntosh M.K., Odle J. (2005). Conjugated linoleic acid evokes de-lipidation through the regulation of genes controlling lipid metabolism in adipose and liver tissue. *Obes. Rev.* 6(3):247-258.

Jeremic N, Chaturvedi P., Tyagi S.C. (2016). Browning of white fat: novel insights into factors, mechanisms, and ther-

apeutics. *J. Cell Physiol.* Articolo in stampa.

Johnson P.R., Francendese A.A. (1985). Cellular regulation of adipose tissue growth. *J. Anim. Sci.* 61(Suppl. 2):57-75.

Kammoun H.L., Febbraio M.A. (2014). Come on BAIBA light my fire. *Cell Metab.* 19(1):1-2.

Kiefer F.W., Vernochet C., O'Brien P., Spoerl S., Brown J.D., Nallamshetty S., Zeyda M., Stulnig T.M., Cohen D.E., Kahn C.R., Plutzky J. (2012). Retinaldehyde dehydrogenase 1 regulates a thermogenic program in white adipose tissue. *Nat. Med.* 18(8):918-925.

Kim J.B., Spiegelman B.M. (1996). ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism. *Genes Dev.* 10(9):1096-1107.

Kitao N., Hashimoto M. (2012). Increased thermogenic capacity of brown adipose tissue under low temperature and its contribution to arousal from hibernation in Syrian hamsters. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 302(1):R118-125.

Klaus S., Casteilla L., Bouillaud F., Ricquier D. (1991). The uncoupling protein UCP: a membraneous mitochondrial ion carrier exclusively expressed in brown adipose tissue. *Int. J. Biochem.* 23(9):791-801.

Klingenberg M. (1999). Uncoupling protein - a useful energy dissipator. *J. Bioenerg. Biomembr.* 31(5):419-430.

Lagouge M., Argmann C., Gerhart-Hines Z., Meziane H., Lerin C., Daussin F., Messadeq N., Milne J., Lambert P., Elliott B., Geny B., Laasko M., Puigserver P., Auwerx J. (2006). Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell* 127(6):1109-1122.

Lee J.Y., Takashi N., Yasubuchi M., Kim Y.I., Hashizaki H., Kim M.J., Sakamoto T., Goto T., Kawada T. (2012). Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 302(2):C463-C472.

Liaset B., Hao Q., Jorgensen H., Hallenborg P., Du Z.Y., Ma T., Marschall H.U., Kruhoffer M., Li R., Li Q., Yde C.C., Criales G., Bertram H.C., Mellgren G., Ofjord E.S., Lock E.J., Espe M., Froyland L., Madsen L., Kristiansen K. (2011). Nutritional regulation of bile acid metabolism is associated with improved pathological characteristics of the metabolic syndrome. *J. Biol. Chem.* 286(32):28382-28395.

Liu Y.C., Satoh K., Hasegawa Y. (2006). Feeding scallop shell powder induces the expression of uncoupling protein 1 (UCP1) in white adipose tissue of rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70(11):2733-2738.

Lo K.A., Sun L. (2013). Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. *Biosci. Rep.* 33(5):e00065.

Madsen L., Pedersen L.M., Lillefosse H.H., Fjaere E., Bronstad I., Hao Q., Petersen R.K., Hallenborg P., Ma T., De Matteis R., Araujo P., Mercader J., Bonet M.L., Hansen J.B., Cannon B., Nedergaard J., Wang J., Cinti S., Voshol P., Daskeland S.O., Kristiansen K. (2010). UCP1 induction during recruitment of brown adipocytes in white adipose

tissue is dependent on cyclooxygenase activity. *PLoS One* 5(6):e11391.

Maeda H., Hosokawa M., Sashima T., Funayama K., Miyashita K. (2005). Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 332(2):392-397.

Noble E.E., Billington C.J., Kotz C.M., Wang C. (2011). The lighter side of BDNF. *Am.J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300, R1053-R1069.

Oi-Kano Y., Kawada T., Watanabe T., Koyama F., Watanabe K., Senbongi R., Iwai K. (2007). Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. *J. Nutr. Biochem.* 18(10):685-692.

Oi-Kano Y., Kawada T., Watanabe T., Koyama F., Watanabe K., Senbongi R., Iwai K. (2008). Oleuropein, a phenolic compound in extra virgin olive oil, increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 54(5):363-370.

Otto T.C., Lane M.D. (2005). Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 40(4):229-242.

Ouchi N., Parker J.L., Lugus J.J., Walsh K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 11:85-97.

Palou A., Picó C., Bonet M.L. (2013). Nutritional potential of metabolic remodelling of white adipose tissue. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 16(6):650-656.

Petrovic N., Walden T.B., Shabalina I.G., Timmons J.A., Cannon B., Nedergaard J. (2010). Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 285(10):7153-7164.

Pico C., Bonet M.L., Palou A. (1998). Stimulation of uncoupling protein synthesis in white adipose tissue of mice treated with the beta 3-adrenergic agonist CGP-12177. *Cell Mol. Life Sci.* 54(2):191-195.

Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J.D., Moorman M.A., Simonetti D.W., Craig S., Marshark D.R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 284(5411):143-147.

Poissonnet C.M., Burdi A.R., Bookstein F.L. (1983). Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Hum. Dev.* 8(1):1-11.

Prunet-Marcassus B., Cousin B., Caton D., André M., Pénicaud L., Casteilla L. (2006). From heterogeneity to plasticity in adipose tissues: site-specific differences. *Exp. Cell Res.* 312(6):727-736.

Rangwala S.M., Lazar M. (2000). Transcriptional control of adipogenesis. *Annu. Rev. Nutr.* 20:535-559.

Roberts L.D., Boström P., O'Sullivan J.F., Schnizel R.T.,

Lewis G.D., Dejam A., Lee Y.K., Palma M.J., Calhoun S., Georgiadi A., Chen M.H., Ramachandran V.S., Larson M.G., Bouchard C., Rankinen T., Souza A.L., Clish C.B., Wang T.J., Estall J.L., Soukas A.A., Cowan C.A., Spiegelman B.M., Gerszten R.E. (2014). β -aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic β -oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors. *Cell Metab.* 19(1):96-108.

Rosen E.D., Spiegelman B.M. (2000). Molecular regulation of adipogenesis. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 16:145-171.

Ross S., Hemati N., Longo K.A., Bennett C.N., Lucas P.C., Erickson R.L., MacDougald O.A. (2000). Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science*. 289(5481):950-953.

Scarpace P.J., Matheny M. (1998). Leptin induction of UCP1 gene expression is dependent on sympathetic innervation. *Am. J. Physiol.* 275(2 Pt. 1):E259-E264.

Schulz T.J., Huang P., Huang T.L., Xue R., McDougall L.E., Townsend K.L., Cypess A.M., Mishina Y., Gussoni E., Tseng Y.H. (2013). Brown-fat paucity due to impaired BMP signaling induces compensatory browning of white fat. *Nature*. 495(7441):379-383.

Seale P., Kajimura S., Yang W., Chin S., Rohas L.M., Uldry M., Tavernier G., Langin D., Spiegelman B.M. (2007). Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metab.* 6(1):38-54.

Seale P., Bjork B., Yang W., Kajimura S., Chin S., Kuang S., Scimè A., Devarakonda S., Conroe H.M., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Rudnicki M.A., Beier D.R., Spiegelman B.M. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*. 454(7207):961-967.

Seale P., Lazar M.A. (2009). Brown fat in humans: turning up the heat on obesity. *Diabetes*. 58(7):1482-1484.

Seale P., Conroe H.M., Estall J., Kajimura S., Frontini A., Ishibashi J., Cohen P., Cinti S., Spiegelman B.M. (2011). Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J. Clin. Invest.* 121(1):96-105.

Sell H., Berger J.P., Samson P., Castriota G., Lalonde J., Deshaies Y., Richard D. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonism increases the capacity for sympathetically mediated thermogenesis in lean and ob/ob mice. *Endocrinology*. 145(8):3925-3934.

Shoelson S.E., Lee J., Goldfine A.B. (2006). Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 116:1793-1801.

Skurk T., Van Harmelen V., Hauner H. (2004). Angiotensin II stimulates the release of interleukin-6 and interleukin-8 from cultured human adipocytes by activation of NF-kappaB. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24(7):1199-1203.

Smas C.M., Sul H. (1993). Pref-1, a protein containing EGF-like repeats, inhibits adipocyte differentiation. *Cell*. 73(4):725-734.

Steppan C.M., Bailey S.T., Bhat S., Brown E.J., Banerjee R.R., Wright C.M., Patel H.R., Ahima R.S., Lazar M.A. (2001). The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 409(6818):307-312.

Trayhurn P., Beattie J.H. (2001). Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nutr. Soc.* 60(3):329-339.

Valet P., Tavernier G., Castan-Laurell I., Saulnier-Blache J.S., Langin D. (2002). Understanding adipose tissue development from transgenic animal models. *J. Lipid Res.* 43(6):835-860.

Virtanen, K. A., Lidell, M. E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., et al. (2009) Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N. Engl. J. Med.* 360, 1518–1525

Van Harmelen V., Ariapart P., Hoffstedt J., Lundkvist I., Bringman S., Arner P. (2000). Increased adipose angiotensinogen gene expression in human obesity. *Obes. Res.* 8(4):337-341.

Vogler O., Lopez-Bellan A., Alemany R., Tofe S., Gonzalez M., Quevedo J., Pereg V., Barcelo F., Escriba P.V. (2008). Structure-effect relation of C18 long-chain fatty acids in the reduction of body weight in rats. *Int. J. Obes. (Lond.)*. 32(3):464-473.

Wajchenberg B.L. (2000). Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* 21(6):697-738.

Wolf G. (2009). Brown adipose tissue: the molecular mechanism of its formation. *Nutr. Rev.* 67(3):167-171.

World Health Organization (2014). Obesity and overweight. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

Wu C.L., Diekman B.O., Jain D., Guilak F. (2012). Di-

et-induced obesity alters the differentiation potential of stem cells isolated from bone marrow, adipose tissue and infrapatellar fat pad: the effects of three fatty acids. *Int. J. Obes. (Lond.)*. 37(8):1079-1087.

Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S., Sugiyama T., Miyagishi M., Hara K., Tsunoda M., Murakami K., Ohteki T., Uchida S., Takekawa S., Waki H., Tsuno N.H., Shibata Y., Terauchi Y., Froguel P., Tobe K., Koyasu S., Taira K., Kitamura T., Shimizu T., Nagai R., Kadowaki T. (2003). Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 423(6941):762-769.

Yeh W.C., Cao M., Casson M., McKnight S.L. (1995). Cascade regulation of adipocyte terminal differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper proteins. *Genes Dev.* 15(2):168-181.

Yoneshiro T., Aita S., Kawai Y., Iwanaga T., Saito M. (2012). Nonpungent capsaicin analogs (capsinoids) increase energy expenditure through the activation of brown adipose tissue in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 95(4):845-850.

Zhang L.L., Yan Liu D., Ma L.Q., Luo Z.D., Cao T.B., Zhong J., Yan Z.C., Wang L.J., Zhao Z.G., Zhu S.J., Schrader M., Thilo F., Zhu Z.M., Tepel M. (2007). Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity. *Circ. Res.* 100(7):1063-1070.

Zhao J., Cannon B., Nedergaard J. (1998). Thermogenesis is β_3 - but not β_1 -adrenergically mediated in rat brown fat cells, even after cold acclimation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 275(6):R2002-R2011.