

# **UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA- DIMED

Direttore: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

**CLINICA MEDICA 3**

Direttore: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

TESI DI LAUREA

**"RUOLO DEGLI ANTICORPI ANTI-RECETTORE-1  
DELL'ANGIOTENSINA II E ANTI-RECETTORE-A  
DELL'ENDOTELINA-1 NELLA MICROANGIOPATIA  
DELL'OBESO"**

RELATORE: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

CORRELATORE: Dott. Angelo Di Vincenzo

LAUREANDO: Mattia Pesavento

ANNO ACCADEMICO 2022/2023



*A Marco, motivo di resistenza e senso dell'esistere.*

*A Mamma Sabrina, primo sorriso e amore incondizionato.*

*A Papà Vincenzo, faro nelle difficoltà e primo sostenitore.*

*A Nonna Lucia, spirito combattente e narratrice instancabile.*

*A Nonna Vlademira, maestra di speranza e amore per i fragili.*

*A Nonno Lino, motivo per cui sono qui.*

*A Nonno Livino, creatore di infanzie e di mondi.*

*A Birba, compagna nel dolore e gioia di vivere.*



# INDICE

<b>RIASSUNTO .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>CAPITOLO 1: INTRODUZIONE .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1 OBESITÀ: DEFINIZIONE.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DELL'ORGANO ADIPOSO.....</b>	<b>7</b>
1.2.1 TIPI DI TESSUTO ADIPOSO .....	7
1.2.2 ADIPOCITA DEL WAT, FUNZIONE ENERGETICA E METABOLICA.....	9
1.2.3 ADIPOCITA E FUNZIONE ENDOCRINA .....	10
1.2.4 ADIPOCITA E FUNZIONE IMMUNITARIA INNATA.....	12
<b>1.3 EZIOLOGIA E PATOGENESI DELL'OBESITÀ.....</b>	<b>15</b>
1.3.1 FATTORI GENETICI .....	15
1.3.2 FATTORI AMBIENTALI.....	16
1.3.3 OBESITÀ SECONDARIE A PATOLOGIE SISTEMICHE.....	17
1.3.4 RUOLO DELL'IPOTALAMONELLA REGOLAZIONE DEL BILANCIO ENERGETICO E DEL PESO CORPOREO .....	17
1.3.5 SEGNALI NEURO-ENDOCRINI INTEGRATI DALL'IPOTALAMO.....	19
1.3.6 RISPOSTE NEUROENDOCRINE E COMPORTAMENTALI DELL'IPOTALAMO .....	21
1.3.7 ROTTURA DEL MECCANISMO OMEOSTATICO IPOTALAMICO.....	21
1.3.8 CONCLUSIONI SULLE TEORIE EZIO-PATOGENETICHE DELL' OBESITÀ.....	22
<b>1.4 FISIOPATOLOGIA DELL'OBESITÀ .....</b>	<b>25</b>
1.4.1 FISIOLOGIA DELLA RISPOSTA INFIAMMATOARIA .....	25
1.4.2 EVOLUZIONE DELLA RISPOSTA INFIAMMATOARIA .....	28
1.4.3 ORGANO ADIPOSO COME MOTORE INFIAMMATOARIO .....	29
1.4.4 INDUZIONE DELLA FLOGOSI DEL WAT: IL RUOLO DELLA NECROSI ADIPOCITARIA .....	30
1.4.5 RECLUTAMENTO E FUNZIONE DELLE CELLULE IMMUNITARIE NEL WAT .....	32
1.4.6 ADIPOSITE CRONICA: IL CIRCOLO VIZIOSO DEL PAZIENTE OBESO .....	34
1.4.7 INFIAMMAZIONE SISTEMICA DI BASSO GRADO E SVILUPPO DI INSULINO-RESISTENZA .....	35
<b>1.5 RUOLO DELLA LOW-GRADE INFLAMMATION NELLE COMPLICANZE SISTEMICHE DELL'OBESITÀ.....</b>	<b>39</b>

1.5.1 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE ENDOCRINO-METABOLICHE .....	39
1.5.2 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE MACROVASCOLARI	51
1.5.3 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE MICROVASCOLARI	57
1.5.4 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE CARDIACHE .....	73
1.5.5 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE POLMONARI .....	82
1.5.6 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E ALTRE PATOLOGIE ORGANO-SPECIFICHE .....	89
<b>1.6 OBESITÀ E AUTOIMMUNITÀ.....</b>	<b>91</b>
1.6.1 POPOLAZIONI LINFOCITARIE DEL WAT DEGLI OBESI.....	93
1.6.2 RUOLO DELLE ADIPOCHINE NELLE MALATTIE AUTOIMMUNI.....	94
1.6.3 MALATTIE AUTOIMMUNI CORRELATE ALL'OBESITÀ .....	97
<b>1.7 RUOLO DEGLI AUTOANTICORPI ANTI-AT1R E ANTI-ETAR NELLA PATOGENESI DELLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI .....</b>	<b>107</b>
1.7.1 ANGIOTENSINA II E ENDOTELINA-1: RECETTORI E AZIONI FISILOGICHE .....	107
1.7.2 AUTOANTICORPI ANTI-AT1R E ANTI-ETAR: FORMAZIONE E FISIOPATOLOGIA .....	108
1.7.3 AT1R-AA E ETAR-AA, MALATTIE CARDIOVASCOLARI E POLMONARI .....	110
<b>CAPITOLO 2: SCOPO DELLO STUDIO .....</b>	<b>117</b>
<b>CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI.....</b>	<b>119</b>
<b>CAPITOLO 4: RISULTATI .....</b>	<b>121</b>
<b>CAPITOLO 5: DISCUSSIONE .....</b>	<b>127</b>
<b>CAPITOLO 6: CONCLUSIONI.....</b>	<b>129</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>131</b>

## RIASSUNTO

**Introduzione:** l'obesità è una condizione ad alto impatto assistenziale per i sistemi sanitari a causa delle complicanze cliniche associate, in particolare le malattie cardiovascolari (CVD) che richiedono ricovero ospedaliero, procedure interventistiche e trattamenti cronici. I meccanismi attraverso cui l'obesità porta a sviluppare malattie cardiovascolari sono complessi e non del tutto compresi. Sicuramente, lo sviluppo di uno stato infiammatorio sistemico sembra giocare un ruolo fondamentale, ma recentemente è stato considerato anche il ruolo dell'autoimmunità. Il ruolo degli autoanticorpi anti-recettore di tipo 1 dell'angiotensina II (AT1R) e anti-recettore di tipo A dell'endotelina-1 (ETAR1), nello sviluppo di complicanze cardiovascolari, è stato ipotizzato in alcuni contesti clinici. Sono anticorpi funzionali che promuovono la vasocostrizione interagendo con i relativi recettori. Questi autoanticorpi hanno mostrato effetti vasocostrittori, pro-infiammatori e pro-fibrotici e la loro presenza è associata allo sviluppo di ipertensione polmonare nella sclerosi sistemica. Nonostante sia così descritto in alcuni contesti, sono limitati i dati in altre condizioni cardiovascolari e non sono disponibili dati sull'obesità.

**Materiali e Metodi:** sono stati arruolati 29 pazienti con obesità grave (13 femmine e 16 maschi) reclutati dall'Unità di Bariatrica dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova. Ogni paziente è stato valutato, prima e 12 mesi dopo la gastrectomia sleeve laparoscopica (LSG), con parametri clinici generali e una valutazione di laboratorio metabolica completa. In tutti i pazienti, abbiamo determinato i livelli plasmatici di autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1. Dieci soggetti di peso normale sono stati considerati come gruppo di controllo. Tra i pazienti trattati, 10 soggetti sono stati sottoposti anche a test da sforzo cardiopolmonare (CPET).

**Risultati:** al basale, i pazienti con obesità hanno mostrato livelli plasmatici più elevati di autoanticorpi anti-AT1R rispetto alle controparti di peso normale. Dopo un anno dalla chirurgia bariatrica, i pazienti con obesità hanno mostrato un significativo miglioramento di diversi parametri metabolici e infiammatori, e una

significativa riduzione della concentrazione di autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1. Abbiamo anche osservato una relazione tra anticorpi anti-AT1R e alcuni parametri funzionali su CPET come il pulse  $O_2$  e il rapporto di scambio respiratorio (RER), suggerendo il loro possibile coinvolgimento nella ridotta prestazione cardio-polmonare osservata nell'obesità.

**Conclusioni:** le complicanze cardiovascolari rappresentano la principale causa di morbilità e mortalità nei pazienti affetti da obesità. Segnaliamo che i soggetti con obesità mostrano livelli plasmatici più elevati di autoanticorpi anti-AT1R e che dopo la chirurgia bariatrica le loro concentrazioni sono ridotte. Questi autoanticorpi possono contribuire all'aumento del rischio di CVD nell'obesità e possono rappresentare un possibile bersaglio terapeutico.

## ABSTRACT

**Introduction:** obesity is a condition with a high clinical burden for the health systems due to the associated clinical complications, in particular, cardiovascular diseases (CVDs) requiring hospitalization, interventional procedures, and chronic treatments. The mechanisms by which obesity leads to CVDs are complex and not entirely understood. Surely, the development of a systemic inflammatory state seems to play a pivotal role, but recently also the role of autoimmunity has been considered. The role of autoantibodies anti-angiotensin II type 1 receptor (AT1R) and anti-endothelin 1 type A receptors (ETAR1) in the development of cardiovascular complications has been hypothesized in some clinical settings. They are functional antibodies promoting vasoconstriction interacting with the relative receptors. These autoantibodies showed vasoconstrictor, pro-inflammatory, and pro-fibrotic effects, and their presence is associated with the development of pulmonary hypertension in systemic sclerosis. Despite being so described in other settings, limited data are reported on other cardiovascular conditions and no data are available in obesity.

**Materials and Methods:** we enrolled 29 patients with severe obesity (13 females and 16 males) recruited from the Bariatric Unit of the University Hospital of

Padova. Each patient was evaluated before and 12 months after laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) with general clinical parameters and a complete metabolic laboratory assessment. In all patients, we determined plasma levels of anti-AT1R and anti-ETAR1 autoantibodies. Ten normal-weight subjects were considered as the control group. Among treated patients, 10 subjects also underwent cardiopulmonary exercise testing (CPET).

**Results:** at baseline, patients with obesity showed higher plasma levels of anti-AT1R autoantibodies with respect to normal-weight counterparts. After one year from bariatric surgery, patients with obesity showed a significant amelioration of several metabolic and inflammatory parameters and even a significant reduction of anti-AT1R and anti-ETAR1 autoantibodies concentration. Of note, we also observed a relationship between anti-AT1R and some functional parameters on CPET such as O<sub>2</sub> pulse and the respiratory exchange ratio, suggesting their possible involvement in the reduced cardiopulmonary performance observed in obesity.

**Conclusions:** cardiovascular complications represent the main cause of morbidity and mortality in patients with obesity. We report that subjects with obesity show higher plasma levels of anti-AT1R autoantibodies and that after bariatric surgery their concentrations are reduced. These autoantibodies may contribute to the increased risk of CVD in obesity and may represent a possible therapeutic target.



# CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

## 1.1 OBESITÀ: DEFINIZIONE

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS): “Sovrappeso e obesità sono definiti da un anormale o eccessivo accumulo di grasso che rappresenta un rischio per la salute”. Il termine “obesità” deriva dal latino “*obesitas*”, che indica la condizione di chi è “*grasso, grosso o paffuto*”, a sua volta derivato da “*esum*”, participio passato di “*edere*” (“mangiare”), con l'aggiunta del prefisso “*ob*” (“*per, a causa di*”). L'uso del sostantivo “*obesità*” è documentato in italiano dal Settecento, mentre l'aggettivo “*obeso*” è precedente e risale al Cinquecento.

Un'altra definizione di obesità è stata data nel 2012 dalla “American Association of Clinical Endocrinology” (AAACE): “L'obesità è una malattia cronica basata sull'adiposità (ABCD-Adiposity Based Chronic Disease)”(1). Come altre patologie croniche, presenta una fisiopatologia complessa che coinvolge interazioni fra geni, fattori biologici, ambiente e comportamento. È una patologia in quanto soddisfa i tre criteri per essere definita come tale(2), ovvero:

- presenta segni e sintomi facilmente riconoscibili;
- comporta alterazioni morfo-funzionali in almeno un tessuto;
- determina complicanze sistemiche o morte del paziente.

In particolare, nel paziente affetto da obesità:

- i segni e i sintomi sono dati da un aumento dell'adiposità che può essere stimata utilizzando il BMI (indice di massa corporea espresso in  $\text{kg}/\text{m}^2$ );
- le alterazioni morfo-funzionali riguardano prevalentemente l'ipotalamo e il tessuto adiposo. Nell'obesità le interazioni tra gli ormoni della sazietà e i centri della nutrizione nel sistema nervoso centrale sono alterate, risultando nell'incremento dell'intake calorico e delle riserve energetiche adipose. Il WAT (White Adipose Tissue) si presenta ipertrofico, iperplastico e va incontro a flogosi esitando in un quadro istopatologico di adiposità cronica. La secrezione di adipocitochine viene disregolata portando a un'alterazione del

metabolismo energetico e del microcircolo tissutale sistemico, e alla progressione della malattia cardio-metabolica;

- le complicanze sistemiche dell'obesità sono biomeccaniche, metaboliche e psichiche; possono determinare la disabilità o la morte del paziente. Il rischio relativo di morte aumenta all'aumentare del BMI (Figura 1).

### Relazione tra BMI e Mortalità

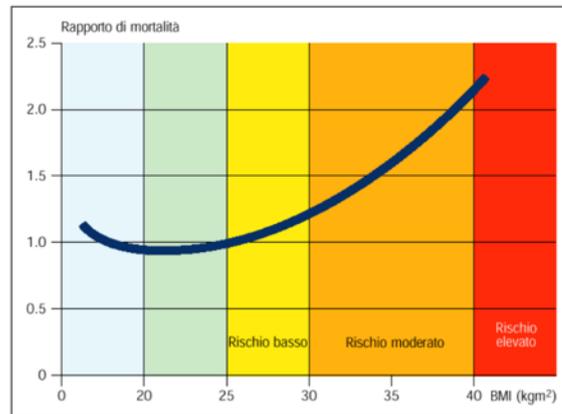


Figura 1: Relazione tra BMI e mortalità. La curva della mortalità in funzione del BMI ha una forma a “J”: si osserva un aumento di mortalità sia nei pazienti sottopeso (come nel caso dell'anoressia nervosa), sia nei pazienti pre-obesi o obesi. Immagine modificata da Averna et al.(3).

## 1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DELL'ORGANO ADIPOSO

L'obesità è istopatologicamente legata a ipertrofia, iperplasia, necrosi e flogosi dell'organo adiposo. Al fine di comprendere la patologia è opportuna una premessa sull'anatomia e la fisiologia dell'adipe.

Il tessuto adiposo è il più grande organo endocrino del corpo umano. È un organo diffuso in tutte le regioni corporee e, oltre alla funzione storicamente affermata di deposito di energia metabolica sotto forma di trigliceridi, presenta molte altre funzioni. (4)

La capacità di immagazzinare energia sotto forma di lipidi è una funzione comune a diversi organismi dell'albero filogenetico, sia unicellulari che pluricellulari. Mentre i procarioti e gli eucarioti unicellulari accumulano i lipidi in organelli citoplasmatici noti come “gocce lipidiche” e “corpi lipidici”, gli organismi pluricellulari hanno sviluppato cellule specializzate ad immagazzinarli. Sia nei vertebrati che negli invertebrati, i lipidi accumulati vengono metabolizzati durante i periodi di starvation, consentendo l'adattamento dell'organismo al variare delle condizioni ambientali. (5)

### 1.2.1 TIPI DI TESSUTO ADIPOSO

Nei mammiferi esistono diversi tipi di tessuto adiposo:

- tessuto adiposo bianco (WAT): gli adipociti “bianchi” sono i più numerosi nel totale degli adipociti dell'organismo umano. Contengono un'unica grande goccia lipidica e meno mitocondri rispetto a quelli presenti nel tessuto adiposo bruno. La morfologia cellulare riflette la funzione di deposito di energia sotto forma di trigliceridi e la capacità di rilasciarli in risposta alle variazioni endocrine, nutrizionali e metaboliche dell'organismo(4);
- tessuto adiposo bruno (BAT): gli adipociti “bruni” contengono multiple gocce lipidiche e numerosi mitocondri. La loro funzione primaria è quella di dissipare l'energia immagazzinata convertendola in calore. Nell'uomo il BAT è prevalentemente presente nella zona interscapolare dell'infante e aumenta negli adulti cronicamente esposti a basse temperature(4);

- tessuto adiposo beige: gli adipociti “beige” presentano caratteristiche intermedie tra quelli “bianchi” e quelli “bruni” e, nella popolazione adulta, potrebbero essere più numerosi di quanto si pensi(4);
- tessuto adiposo del midollo osseo (BMAT): è situato all’interno delle cavità midollari dell’osso e rende conto della componente gialla del midollo osseo. Si pensa abbia un’origine diversa sia dal WAT che dal BAT(4).

Il WAT è distribuito nel corpo in diversi depositi distinti:

- WAT sottocutaneo (sWAT): è localizzato in diverse regioni corporee al di sotto della cute, come componente del derma. Si può riscontrare prevalentemente a livello addominale superficiale e nella regione gluteo-femorale (rendendo conto della tipica obesità ginoide o a pera). È coinvolto nella regolazione della fisiologia del ciclo del follicolo pilifero (6) e nella risposta immunitaria alle infezioni cutanee(7);
- WAT facciale: si divide in superficiale e profondo. I depositi superficiali costituiscono prevalentemente l’ipoderma della cute del volto. Il tessuto adiposo naso-labiale si trova in corrispondenza del solco cutaneo naso-labiale, l’adipe delle guance conferisce la forma del volto, l’adipe orbitale circonda l’occhio e l’adipe mandibolare è palpabile nella regione mentoniera. I depositi profondi si trovano a livello sub-orbitale, retro-orbitale e buccale(4). Il WAT retro-orbitale è coinvolto nella patogenesi dell’oftalmopatia di Graves(8);
- WAT mammario: nella ghiandola mammaria i dotti galattofori e gli adenomeri produttori latte sono immersi nel tessuto connettivo fibroso e nel tessuto adiposo mammario (mgWAT). La percentuale di adiposità mammaria presenta una variabilità interindividuale e intraindividuale. Gli adipociti interagiscono con le cellule epiteliali e promuovono la morfogenesi alveolare e duttale, la ramificazione dei dotti galattofori e il differenziamento delle cellule epiteliali in cellule secernenti latte(4). Le interazioni adipocita-cellula epiteliale sono estremamente rilevanti nella fisiopatologia dei carcinomi della mammella, dove mgWAT influenza la progressione e l’invasività del tumore della mammella secernendo ormoni, nutrienti e fattori di crescita(9);
- WAT articolare e palmo-plantare: il WAT si può trovare all’interno e all’esterno delle articolazioni, a livello del palmo della mano e della pianta del

piede. Esempi ne sono l'adipe nella fossa acetabolare dell'articolazione dell'anca e il corpo di Hoffa infrapatellare dell'articolazione del ginocchio. Funzionalmente il WAT articolare e palmo-plantare funge da cuscinetto riducendo l'attrito presente tra i diversi capi ossei che compongono l'articolazione(4). Da un punto di vista fisiopatologico il WAT articolare viene coinvolto nelle patologie degenerative dello scheletro. Nell'artrosi dell'anca va incontro ad atrofia, fibrosi, calcificazione e necrosi. Nell'artrosi del ginocchio sembra che gli adipociti abbiano un ruolo importante nella flogosi articolare attraverso la secrezione paracrina di elevati livelli di IL6, leptina, adiponectina e altre adipochine(10);

- WAT midollare (BMAT): il midollo osseo è il principale organo emopoietico dell'adulto e ospita il BMAT (Bone Marrow Adipose Tissue), un particolare tipo di tessuto adiposo. Da un punto di vista funzionale il BMAT è un organo endocrino e interagisce con le cellule staminali emopoietiche circostanti e le cellule del tessuto osseo, in particolare gli osteoclasti(4). Viene coinvolto nella patogenesi dell'osteoporosi(11);
- WAT epicardico: il cuore è avvolto da due depositi di WAT, il tessuto adiposo pericardico e il tessuto adiposo epicardico. Il più importante nella fisiologia cardiaca e nella fisiopatologia delle malattie cardio-vascolari è il WAT epicardico. Anatomicamente copre l'80% della superficie cardiaca ed è compreso tra il miocardio e il foglietto viscerale del pericardio(4). È coinvolto nella patogenesi di svariate patologie cardio-vascolari(12);
- WAT viscerale (vWAT): nell'uomo si trova prevalentemente a livello addominale. Infiltra l'omento, il mesentere, il retroperitoneo e le gonadi(4). Entra in contatto con l'intestino e presenta un importante ruolo nella fisiopatologia delle malattie infiammatorie croniche intestinali, in particolare nel Morbo di Chron(13).

### **1.2.2 ADIPOCITA DEL WAT, FUNZIONE ENERGETICA E METABOLICA**

Ogni tessuto del corpo umano presenta una funzione che dipende dalla propria anatomia e dalla propria attività metabolica. Nell'uomo il tessuto adiposo costituisce il 15% della massa corporea del giovane adulto sano ed è

metabolicamente molto attivo. Risponde a stimoli ormonali interagendo con il fegato, il cuore e il muscolo scheletrico, i principali organi dell'apparato metabolico(4).

L'adipocita del WAT presenta un attivo metabolismo glicolitico. In condizioni di abbondanza energetica, grazie alla stimolazione insulinica, converte il glucosio in trigliceridi che si accumulano nella goccia lipidica citoplasmatica. In condizioni di starvation le lipasi adipocitarie idrolizzano i trigliceridi immagazzinati e liberano acidi grassi trasportati dall'albumina al muscolo e al cuore. La lipasi adipocitaria viene regolata dall'adrenalina che la attiva e dall'insulina che la inibisce, pertanto, l'adrenalina stimola la lipolisi mentre l'insulina la lipogenesi(14). L'equilibrio tra le due pathway dipende dalle condizioni ambientali e metaboliche in cui l'organismo si trova.

### **1.2.3 ADIPOCITA E FUNZIONE ENDOCRINA**

L'adipocita può essere visto come una cellula endocrina, e l'organo adiposo come la ghiandola endocrina più grande dell'organismo. Tra i 50 ormoni secreti vi sono:

- **Leptina:** ormone peptidico di 167 aminoacidi. Fu scoperta nel 1994 ed il suo nome deriva dal greco "leptos" che significa "magro". Da un punto di vista funzionale potrebbe essere paragonata all'epcidina in quanto, come i valori di epcidina riflettono i depositi di ferro dell'organismo, così i valori di leptina correlano con il numero e le dimensioni degli adipociti del WAT. Maggiore è il contenuto adiposo del WAT, maggiori sono le concentrazioni di leptina, minore è il contenuto adiposo del WAT, minori sono le concentrazioni di leptina.

Fu identificata come prodotto del gene OB nei topi da laboratorio. I topi con doppio knockout del gene OB presentavano basse concentrazioni di leptina e mostravano una fisiopatologia e un comportamento tipici della fame insaziabile e del digiuno protratto: l'appetito e la ricerca di cibo diventavano incontenibili e, come conseguenza dell'iperalimentazione, sviluppavano severe obesità. La somministrazione di leptina esogena portava alla riduzione dell'alimentazione, all'aumento dell'attività motoria, all'aumento della termogenesi e al calo ponderale.

Il recettore della leptina viene espresso a livello sistemico, anche se si trova principalmente nei neuroni del nucleo arcuato dell'ipotalamo, ovvero nelle aree cerebrali che regolano il metabolismo energetico e il comportamento alimentare. La leptina segnala il livello delle riserve di trigliceridi, e, se aumentato, prova a riportarlo a livello basale diminuendo l'assunzione di cibo, stimolando l'attività motoria e inducendo un quadro sistemico di resistenza all'insulina, il più potente ormone anabolico del WAT. Attiva anche il sistema nervoso simpatico con conseguente aumento della pressione sanguigna, del ritmo cardiaco, della termogenesi del BAT e della lipolisi del WAT.

Nell'uomo la concentrazione ematica di leptina aumenta nei soggetti obesi in quanto riflette l'ipertrofia e l'iperplasia degli adipociti "bianchi", tuttavia, l'azione a livello ipotalamico è ridotta a causa di un incompreso sviluppo di leptino-resistenza. Lo studio di questo fenomeno è fondamentale per la comprensione della fisiopatologia dell'obesità comune(14).

- Adiponectina: ormone peptidico di 224 aminoacidi prodotto quasi esclusivamente dall'adipocita in risposta alla diminuzione della massa adiposa, quindi in condizioni di catabolismo del WAT.

Da un punto di vista funzionale si potrebbe definire come "l'ormone controregolatore della leptina", in quanto a livello ipotalamico stimola la fame e induce una diminuzione della spesa energetica. Prendendo in considerazione anche gli ormoni pancreatici, se l'insulina e la leptina sono gli ormoni dell'abbondanza metabolica, il glucagone e l'adiponectina sono gli ormoni del digiuno.

L'adiponectina sensibilizza gli altri organi all'azione dell'insulina, è protettiva nei confronti dell'aterosclerosi e inibisce la flogosi sistemica. La sua diminuzione è coinvolta nella fisiopatologia delle malattie cardio-metaboliche: i pazienti affetti da obesità e diabete mellito di tipo 2 presentano livelli ematici di adiponectina inferiori ai controlli normopeso e non diabetici.

A livello cellulare molti effetti dell'adiponectina sono mediati dall'enzima AMPK (AMP-chinasi): nell'ipotalamo attraverso AMPK stimola l'assunzione di cibo e la riduzione del dispendio energetico. Per comprendere questo effetto si ricordi come l'adiponectina viene secreta quando la massa del WAT si riduce, pertanto, finalisticamente, mira a riportarla ai valori basali. L'effetto

insulino-sensibilizzante fa parte di tale progetto, dal momento che l'insulina è un potente induttore dell'anabolismo del tessuto adiposo. (14)

- Angiotensinogeno: proteina precursore dell'angiotensina-II. I pre-adipociti in fase terminale di differenziamento e gli adipociti maturi esprimono elevati livelli di mRNA dell'angiotensinogeno. Questo dato, insieme alla capacità adipocitaria di esprimere l'ACE (Angiotensin-Converting-Enzyme), rende conto dell'importanza fisiologica attribuita al tessuto adiposo nel controllo della pressione arteriosa e del bilancio idro-elettrolitico (15).
- PAI-1 (Inibitore dell'Attivatore tissutale del Plasminogeno-1): glicoproteina a singola catena con peso molecolare di 52 kD. Appartiene alla famiglia delle serpine. Si lega all'Attivatore tissutale del Plasminogeno (tPA), proteina attivatrice della fibrinolisi, e la inibisce irreversibilmente favorendo i meccanismi trombotici e pro-coagulanti. La sua aumentata secrezione da parte dell'adipocita rende conto della diatesi trombotica presente nei soggetti affetti da obesità (16).

La Figura 2 riassume la grande quantità di molecole secrete dall'adipocita e il loro coinvolgimento nelle principali patologie cardio-metaboliche.

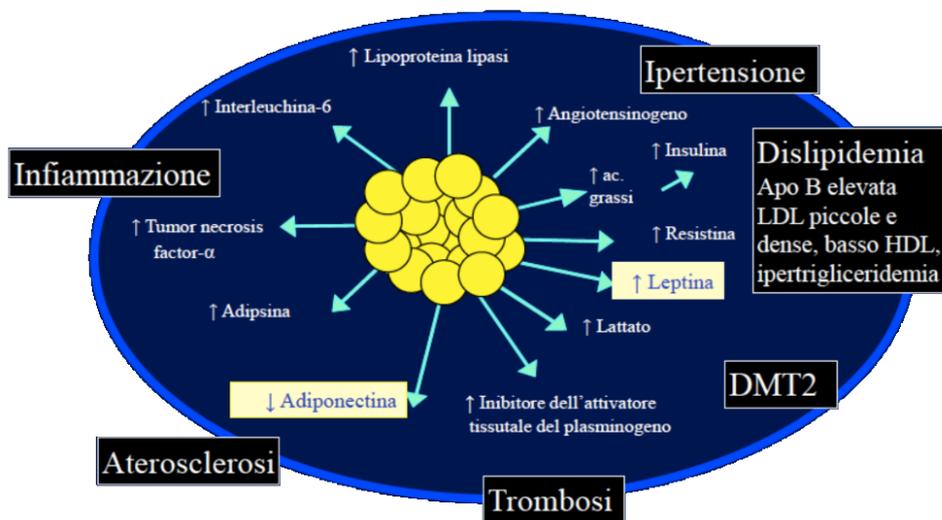


Figura 2: Ormoni e citochine secrete dall'organo adiposo e ruolo nella patogenesi delle principali complicanze dell'obesità.

#### 1.2.4 ADIPOCITA E FUNZIONE IMMUNITARIA INNATA

Negli ultimi anni è emerso come l'adipocita svolga un ruolo importante nell'innescare la risposta immunitaria innata ai microrganismi che penetrano le barriere cutanee e mucosali dell'organismo. L'adipocita non solo secreta citochine pro-infiammatorie, ma è anche in grado di fagocitare i microrganismi e di andare incontro a ipertrofia ed iperplasia costituendo una barriera adiposa intorno ai microbi prevenendone la disseminazione sistemica(4). Tra le principali citochine secrete dall'adipocita vi sono:

- TNF $\alpha$  (Fattore di Necrosi Tumorale  $\alpha$ ): citochina prodotta da adipociti, fagociti mononucleati, linfociti Th1 e cellule NK. Tutte queste popolazioni cellulari si trovano nel tessuto adiposo infiammato del paziente obeso. A basse concentrazioni agisce con modalità paracrina o autocrina sui leucociti stimolando la fagocitosi. Sulle cellule endoteliali stimola l'espressione di molecole di adesione (selectine e ligandi per le integrine) favorendo l'adesione e la diapedesi di neutrofili, monociti e linfociti. A livello ipotalamico agisce come pirogeno endogeno, a livello epatico stimola la sintesi di proteine di fase acuta. Ad alte concentrazioni può indurre ipercoagulabilità, riduzione della funzione cardiaca, alterazioni metaboliche e shock(16). È un importante induttore di insulino-resistenza.
- IL-6 (Interleuchina-6): citochina prodotta anche da adipociti, macrofagi, cellule endoteliali, linfociti B, linfociti T, astrociti, fibroblasti, cellule stromali midollari, cheratinociti e alcune cellule tumorali. Induce la sintesi di proteine di fase acuta a livello epatico e la trombocitopoiesi a livello midollare(16). È un importante induttore di insulino-resistenza.

Nella fisiopatologia dell'obesità queste citochine giocano un ruolo estremamente importante dal momento che molte complicanze sistemiche sono mediate dalla low-grade-inflammation dovuta all'ipersecrezione di TNF $\alpha$  e IL-6.



## **1.3 EZIOLOGIA E PATOGENESI DELL'OBESITÀ**

L'obesità è una patologia multifattoriale in cui fattori genetici e ambientali concorrono a determinare una cronica eccedenza dell'introito calorico rispetto alle spese energetiche con conseguente aumento del peso corporeo (17). È una patologia caratterizzata da cause centrali e complicanze periferiche. Con "centrale" si fa riferimento al sistema nervoso centrale e in particolare all'ipotalamo; con "periferiche" si fa riferimento alle complicanze che riguardano tutti gli organi e gli apparati e sono mediate dalle modificazioni autonome, endocrine e immunologiche associate all'obesità.

### **1.3.1 FATTORI GENETICI**

L'obesità si sviluppa in soggetti geneticamente predisposti. I fattori genetici associati sono stati individuati mediante studi su famiglie, gemelli eterozigoti e gemelli omozigoti separati alla nascita e cresciuti in ambienti diversi. Numerosi studi Genome Wide Association (GWA) hanno evidenziato polimorfismi associati all'obesità nei geni codificanti per proteine coinvolte nella secrezione e nell'azione periferica dell'insulina, nell'adipogenesi, nel metabolismo lipidico ed energetico, e nella funzione sinaptica dei circuiti neuronali che regolano la fame, la sazietà e il metabolismo energetico(18).

Esistono anche alcune forme di obesità monogenica che, in alcuni casi, si associano a ritardo mentale, dismorfismi facciali e complicanze organo-specifiche, definendo dei veri e propri quadri sindromici. In una revisione sistematica sono state individuate 79 forme di obesità monogenica sindromica. Le sindromi più conosciute sono quelle di Prader-Willi, di Ahlstrom, di Cohen, di Laurence-Moon-Bardet-Biedl e la WAGR (19).

Le forme di obesità monogeniche non sindromiche sono invece caratterizzate da mutazioni nei geni LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 e POMC, implicati nelle pathway ipotalamiche della leptina e della melanocortina(18).

Oltre alle mutazioni genetiche, anche le modificazioni epigenetiche che regolano l'espressione genica sono associate allo sviluppo di obesità e possono insorgere già nell'ambiente intrauterino, come suggerito dalla teoria della DOHaD(18).

### 1.3.2 FATTORI AMBIENTALI

A partire dalla metà del 1900, nei Paesi sviluppati si è sviluppato un ambiente “obesiogeno” caratterizzato da:

- alimentazione ricca di grassi saturi e zuccheri: l’assunzione di cibi ricchi di tali nutrienti, con conseguente aumento delle calorie assorbite, è favorita dalla pubblicizzazione, dal loro basso costo e dalla facile reperibilità. Essendo inoltre molto palatabili, vanno ad attivare i centri del reward encefalici (le vie dopaminergiche del nucleus accumbens), i quali ne incentivano l’assunzione a discapito dei cibi più salutari, che spesso sono anche più costosi(20). A sostegno della relazione tra basso costo dei cibi poco salutari e sviluppo di obesità, si può citare un dato epidemiologico: nelle donne con redditi più bassi aumenta l’incidenza di obesità anche a causa del consumo di cibi meno costosi. Questa osservazione si può estendere anche alla popolazione americana di origine afro-caraibica, che solitamente è più povera rispetto alla controparte di origine europea (21);
- riduzione dell’attività fisica: la riduzione dell’attività fisica, e quindi della spesa energetica, è correlata con l’aumento del tempo passato sedentariamente in ambito domestico e sul luogo di lavoro(20). Anche in questo caso le cause del fenomeno vanno ricercate prevalentemente nelle trasformazioni economiche e sociali cui è andata incontro la civiltà occidentale;
- riduzione delle ore di sonno per notte: è stato osservato un aumento del BMI nei soggetti che dormono meno di sette ore a notte. Il meccanismo che collega la privazione di sonno con l’aumento di BMI sarebbe dato dall’aumento delle concentrazioni dell’ormone grelina e dalla diminuzione della leptina con conseguente aumento del senso di fame(22);
- aumento dell’età gestazionale e della prevalenza di obesità materna: nelle gestanti obese che si avviano alla menopausa, la gravidanza si associa all’aumento dell’infiammazione materno-placentare con passaggio di citochine-proinfiammatorie al feto. Gli effetti sul nascituro sono aggravati in caso di alimentazione perinatale con preparati ricchi di grassi(23);
- assunzione di farmaci obesiogeni: numerosi farmaci sono caratterizzati dal collaterale aumento del peso corporeo. L’assunzione di farmaci antidiabetici

come i tiazolidinedioni, l'insulina e le sulfaniluree, di glucocorticoidi, di antipsicotici, di stabilizzanti dell'umore, di antidepressivi come i triciclici e gli inibitori delle mono-amino-ossidasi e di antiretrovirali come gli inibitori delle integrasi, può determinare l'insorgenza di obesità iatrogena(24,25);

- diminuzione del fumo di sigaretta: le campagne di cessazione del fumo di sigaretta hanno mostrato come effetto collaterale l'aumento dell'assunzione di cibi ipercalorici in senso compensatorio ai sintomi da astinenza legati all'assenza di fumo e sperimentati da molti ex-fumatori (26);

### **1.3.3 OBESITÀ SECONDARIE A PATOLOGIE SISTEMICHE**

Numerose patologie somatiche e psichiche sono correlate con lo sviluppo di obesità secondarie per via di modificazioni endocrine o comportamentali:

- disturbi del comportamento alimentare come il Binge Eating Disorder (BED) e la Night Eating Syndrome (NES) si associano a un aumento dell'intake calorico con abbuffate o craving notturno di cibo e aumento del rischio di obesità (27);
- patologie neoplastiche, infiammatorie o d'accumulo dell'ipotalamo ventromediale con coinvolgimento dei centri della fame e della sazietà e alterazione del comportamento alimentare(21);
- patologie cortico-surrenaliche con ipercortisolismo primitivo o secondario, aumento del senso di fame e alterazioni del comportamento alimentare (21);
- insulinoma con iperinsulinismo, aumento del senso di fame causato dall'ipoglicemia e modificazioni del metabolismo sistemico in senso anabolico (21).

### **1.3.4 RUOLO DELL'IPOTALAMONELLA REGOLAZIONE DEL BILANCIO ENERGETICO E DEL PESO CORPOREO**

I fattori genetici, ambientali e le patologie somato-psichiche precedentemente citati contribuiscono a determinare un aumento dell'intake calorico che eccede cronicamente rispetto alle spese energetiche, con conseguente aumento del peso corporeo. In questo processo è centrale il ruolo dell'ipotalamo, la cui alterazione

morfo-funzionale può determinare aumento della fame, iperfagia e obesità. È per questo che si dice che l'obesità ha una patogenesi centrale (nel SNC). (28)

La regolazione del bilancio energetico è un processo dinamico tarato su un set point centrale, chiamato "peso ideale", caratterizzato da una grande variabilità interindividuale. L'organismo tende a mantenere costante il peso corporeo mettendo in atto compensi autonomici, ormonali e comportamentali per minimizzare l'effetto delle perturbazioni ambientali che andrebbero a scostare il valore del "peso reale" rispetto a quello del set point centrale (29):

- in condizioni di eccesso calorico si assiste a un aumento del senso di sazietà con diminuzione dell'assunzione calorica e aumento del consumo energetico a riposo e totale(30);
- in condizioni di restrizione calorica si assiste a un aumento del senso di fame con aumento dell'assunzione calorica e diminuzione del consumo energetico a riposo e totale(30);

Queste evidenze sottolineano come il corpo si opponga alle modificazioni del peso corporeo e spiegano il fallimento di un esclusivo approccio dietetico come terapia dell'obesità, in quanto nell'obeso il set point "fisiologico" del peso corporeo si sposta verso valori maggiori opponendosi ai tentativi di calo ponderale.

Il controllo dell'equilibrio energetico a lungo e a breve termine avviene a livello ipotalamico presso il nucleo arcuato. Questo gruppo di neuroni integra gli input endocrini e metabolici derivati dalla periferia e riguardanti i depositi di nutrienti e l'entità delle spese energetiche; riceve inoltre segnali riguardanti gli aspetti edonici ed emozionali del comportamento alimentare provenienti dai centri cerebrali superiori. Dopo l'integrazione dei segnali vengono messe in atto delle risposte autonome e ormonali: in condizioni di abbondanza metabolica si attivano il sistema nervoso simpatico e l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide con aumento della termogenesi e del metabolismo basale, mentre in condizioni di starvation si attivano il sistema nervoso parasimpatico e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene con riduzione del metabolismo basale e aumento della ricerca e dell'assunzione di cibo (29).

A livello del nucleo arcuato sono presenti due gruppi di neuroni sensibili a ormoni e metaboliti circolanti ma con funzioni opposte:

- neuroni POMC: neuroni anoressigeni esprimenti il neuropeptide POMC (Pro-Opio-Melano-Cortina) processato in  $\alpha$ -MSH, neurotrasmettitore che stimola i centri della sazietà e inibisce i centri della fame(31);
- neuroni NPY/AgRP: neuroni oressigeni esprimenti NPY (Neuro-Peptide Y) e AgRP (Agouti Related Protein) che stimolano i centri della fame e inibiscono i centri della sazietà(31).

### 1.3.5 SEGNALI NEURO-ENDOCRINI INTEGRATI DALL'IPOTALAMO

L'ipotalamo riceve e integra segnali con significato oressigeno e anoressigeno, e mette in atto risposte neuro-endocrine e comportamentali implicate nel mantenimento dell'omeostasi metabolica e nella regolazione del comportamento alimentare. Tali segnali in ingresso sono plurimi e comprendono:

- segnali nervosi mediati dal nervo vago: il nervo vago innerva il tubo digerente e modificazioni meccaniche (dilatazioni) della parete gastro-intestinale comunicano all'ipotalamo il passaggio di alimenti e quindi l'imminente ingresso di energia metabolica. Le contrazioni fasiche dello stomaco vuoto durante il digiuno stimolano l'appetito, mentre la distensione gastrica post-prandiale stimola la sazietà (32);
- segnali ormonali gastro-intestinali: il tubo digerente produce numerosi ormoni con recettori espressi sistemicamente e dai neuroni dei centri della fame e della sazietà. Tra i più importanti vi sono:
  - GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1): è un peptide che viene prodotto dalle cellule L dell'ileo e del colon, passa nel circolo sistemico e viene rapidamente inattivato dalla proteasi DPP-IV. Il GLP-1 innesca un meccanismo a feedback negativo con inibizione della peristalsi gastro-intestinale e rallentamento dello svuotamento gastrico in risposta all'assunzione di cibo. L'effetto che ne deriva è la cessazione dell'assunzione alimentare. GLP-1 stimola inoltre la secrezione di insulina con un meccanismo glucosio-dipendente, inibisce il rilascio di glucagone e invia un segnale di crescita per le  $\beta$ -cellule pancreatiche. Per finire, agisce

come stimolo anoressigeno a livello ipotalamico e per questo gli analoghi ricombinanti del GLP-1 (liraglutide e semaglutide) sono impiegati nella farmacoterapia del diabete mellito di tipo 2 e, a maggior dosaggio trovano impiego anche nel trattamento dell'obesità(15);

- CCK (colecistochinina): è un peptide rilasciato dalle cellule "I" duodenali in risposta alla presenza di lipidi e protidi intraluminari. Va a stimolare il nervo vago in maniera simile a quanto fatto dalla distensione delle pareti gastriche, rallenta lo svuotamento gastrico e presenta un'azione anoressigena centrale(15);
- PYY3-36, apolipoproteina IV ed enterostatina sono altre molecole intestinali con effetto anoressigeno(15);
- Grelina: peptide prodotto a livello gastrico e duodenale. A livello ipotalamico agisce come oressigeno diretto stimolando i neuroni NPY/AgRP. I suoi livelli circolanti crescono nell'immediato periodo pre-prandiale e l'introito di nutrienti ne causa la diminuzione. In caso di calo ponderale indotto dalla dietoterapia, i livelli di grelina aumentano e diminuiscono in caso di incremento di peso. Questo fenomeno indica un ruolo della grelina nella regolazione a lungo termine dell'equilibrio energetico(33);
- segnali nutritivi derivanti dalla digestione degli alimenti: gli aminoacidi e i glucidi, possiedono una migliore capacità di indurre sazietà rispetto ai lipidi. In ogni modo questi nutrienti presentano dei sensori neuronali a livello ipotalamico e inducono il senso di sazietà(34);
- segnali ormonali provenienti dal WAT: la leptina è un ormone peptidico sintetizzato prevalentemente dal WAT ed è direttamente correlata con la percentuale di massa grassa dell'individuo. Informa l'organismo riguardo lo stato dei depositi energetici e funge da bussola per la regolazione dell'omeostasi energetica a lungo termine. Agisce a livello ipotalamico andando a inibire la sintesi di AgRP e di NPY da parte dei neuroni oressizzanti del nucleo arcuato, e stimola la secrezione di  $\alpha$ -MSH da parte dei neuroni POMC contribuendo allo stimolo di sazietà. Inoltre, incrementa il dispendio energetico mediante l'aumento del tono simpatico(35);

- segnali neurotrasmettitoriali derivati dai centri limbici regolanti la sfera emozionale ed edonica della nutrizione (36).

### **1.3.6 RISPOSTE NEUROENDOCRINE E COMPORTAMENTALI DELL'IPOTALAMO**

L'ipotalamo, dopo aver integrato i segnali neuro-endocrini in ingresso e aver creato una rappresentazione neuronale dell'equilibrio metabolico interno, mette in atto una serie di risposte neuro-endocrine e comportamentali volte a mantenere l'equilibrio metabolico all'interno del range di valori centrati sul set-point endogeno:

- in caso di eccesso metabolico e aumento ponderale, il compenso ipotalamico consiste nell'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide con aumento del metabolismo basale, nell'aumento del tono simpatico con stimolazione della termogenesi e della dissipazione di energia metabolica da parte del BAT, e nell'attuazione di programmi comportamentali volti a ridurre l'assunzione di cibo e aumentare l'attività muscolare con consumo dell'energia immagazzinata nel WAT (15);
- in caso di difetto metabolico e calo ponderale, il compenso ipotalamico consiste nell'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e della risposta allo stress, nell'aumento del tono parasimpatico vagale che prepara alla digestione del cibo e all'assorbimento dei nutrienti, e nell'attuazione di programmi comportamentali volti alla ricerca e all'assunzione di cibo con riduzione dell'attività muscolare e risparmio dell'energia immagazzinata nel WAT (15).

Questi meccanismi neuro-endocrini consentono la regolazione centrale del metabolismo energetico e quindi il mantenimento del peso corporeo all'interno del range di valori oscillanti intorno al set-point metabolico.

### **1.3.7 ROTTURA DEL MECCANISMO OMEOSTATICO IPOTALAMICO**

Questo meccanismo di controllo omeostatico del metabolismo energetico e del peso corporeo viene a rompersi con meccanismi non del tutto chiariti in presenza di predisposizione genetica ed esposizione a un ambiente obesigeno. Ne

derivano una resistenza agli stimoli anoressizzanti mediati dalla leptina e dall'insulina, e un'alterazione del set point ipotalamico con conseguente iperfagia e riduzione del metabolismo basale. Il tutto porta all'aumento dei lipidi e dei glucidi circolanti e immagazzinati da parte del WAT, ipertrofia degli adipociti e progressivo incremento ponderale complicato da alterazioni neuro-endocrine e immunitarie sistemiche (37).

### **1.3.8 CONCLUSIONI SULLE TEORIE EZIO-PATOGENETICHE DELL'OBESITÀ**

Nonostante l'aumento della conoscenza dei fattori che possono condurre allo sviluppo di obesità, solo il 12% degli adulti è metabolicamente sano e l'incidenza globale dell'obesità è in continuo aumento. Predisposizione genetica, endocrinopatie, consumo di cibi ipercalorici e processati, ridotta attività fisica, esposizione a stress cronico, disfunzione mitocondriale, esposizione a sostanze ambientali obesigene, modificazioni epigenetiche durante lo sviluppo fetale e neonatale, e alterazioni del microbiota intestinale, sono tutti fattori coinvolti nell'eziopatogenesi dell'obesità che resta, tuttavia, un punto interrogativo a cui è complesso dare risposta (17). Si potrebbe vedere l'obesità, più che come un'unica malattia, come una classe di malattie diverse tra loro, causate da svariate eziologie, e quindi responsive a trattamenti diversi e personalizzati per ogni paziente. Ciò che è certo è che nessuna delle presunte cause deve essere vista come una colpa attribuibile al paziente: nessuno sceglie di ammalarsi di obesità (17). La Figura 3 riassume i diversi fattori che possono portare allo sviluppo di un bilancio energetico positivo cronico e quindi all'obesità.

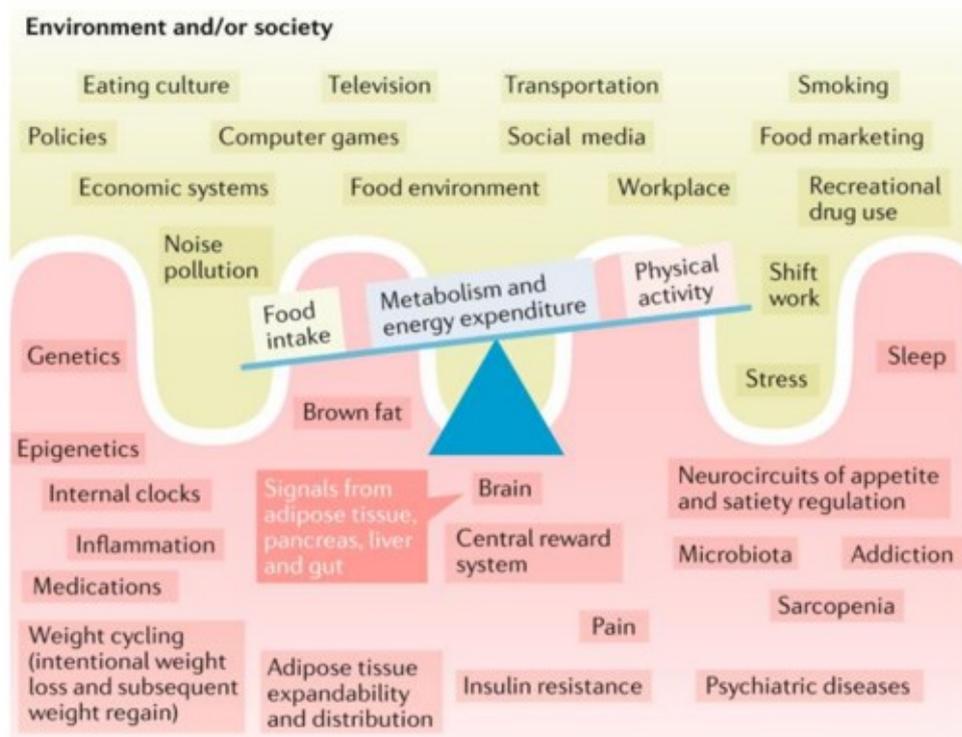


Figura 3: Fattori biologici, psicologici e sociali coinvolti nella patogenesi dell'obesità. Immagine tratta da Blüher et al.(20).



## 1.4 FISIOPATOLOGIA DELL'OBESITÀ

Fino ad ora si sono visti i fattori genetici e ambientali associati alla rottura dei meccanismi di controllo del peso corporeo, con conseguenti aumento della fame, iperfagia, volgimento del metabolismo verso l'anabolismo e ipertrofia del WAT. L'aumento delle riserve di lipidi e del peso corporeo comporta l'attivazione dei meccanismi di compenso mediati dall'ortosimpatico e dalla leptina. L'ortosimpatico agisce cercando di aumentare il dispendio energetico mediante la stimolazione della termogenesi nel BAT, mentre la leptina, a livello ipotalamico, stimola i centri della sazietà e, a livello periferico, lo sviluppo di insulino-resistenza prevenendo l'ulteriore anabolismo del WAT mediato dallo stimolo insulinico. Dal momento che tali compensi neuro-endocrini non bastano per rimuovere lo stimolo patogeno rappresentato dall'eccesso di lipidi nel WAT, si attiva il sistema immunitario che, mediante la risposta infiammatoria, prova a eliminare con insuccesso lo stimolo patogeno. Nei seguenti paragrafi ci si concentrerà sul ruolo della risposta infiammatoria organo-specifica e sistemica nell'obesità e nelle patologie croniche del mondo occidentale, sottolineando come essa, al posto di eliminare la noxa patogena, vada a partecipare all'insorgenza delle complicanze sistemiche periferiche dell'obesità.

### 1.4.1 FISILOGIA DELLA RISPOSTA INFIAMMATORIA

L'infiammazione è una risposta protettiva sviluppata dall'organismo verso stimoli nocivi tradizionalmente rappresentati da infezioni e ferite. I trigger del processo infiammatorio sono numerosi e di diversa natura. Tra i fattori stimolanti l'avvio della risposta infiammatoria si riscontrano (vedi Figura 4):

- agenti fisici: scambi di energia tra organismo e ambiente possono dare origine a lesioni cellulari con liberazione di Damage-Associated-Molecular-Patterns (DAMPs), potenti induttori della risposta infiammatoria (37);
- agenti chimici: sostanze chimiche esogene, variazioni delle concentrazioni di sostanze chimiche endogene o del pH tissutale, possono dare origine a lesioni cellulari con liberazione di DAMPs (37);
- agenti infettivi: gli organismi pluricellulari danno luogo a traumi o immettono sostanze chimiche all'interno dell'organismo parassitato. I batteri e i funghi

unicellulari inducono la risposta infiammatoria liberando tossine che danneggiano i tessuti. I virus infettano le cellule determinandone la morte oppure modificando il pattern antigenico presentato in MHC-1 e rendono conto della trasformazione della cellula “self” in “non self”. Il sistema immunitario riconosce i microrganismi attraverso i loro antigeni di superficie, detti Pathogen-Associated-Molecular-Patterns (PAMPs), oppure si attiva in risposta al rilascio di DAMPs da parte delle cellule self distrutte (37);

- sostanze nutritive: una dieta ricca di zuccheri raffinati e acidi grassi saturi, e povera di antiossidanti naturali, fibre e acidi grassi omega-3, può causare l’attivazione del sistema immunitario innato aumentando la produzione di citochine pro-infiammatorie e riducendo quella di citochine antinfiammatorie(38).Il glucosio e i FFA (Free Fatty Acids) sono in grado di indurre l’attivazione degli inflammosomi e delle pathways proinfiammatorie mediante il recettore di membrana TLR-4 (Toll-Like-Receptor-4) espresso da svariati tipi cellulari (39);
- fattori immunologici: modificazioni nel funzionamento del sistema immunitario possono determinare l’attivazione della risposta infiammatoria. Nel caso delle malattie autoinfiammatorie monogeniche, mutazioni di geni preposti al controllo dell’inflammosoma possono indurre l’attivazione di risposte infiammatorie senza stimolo induttore (37).

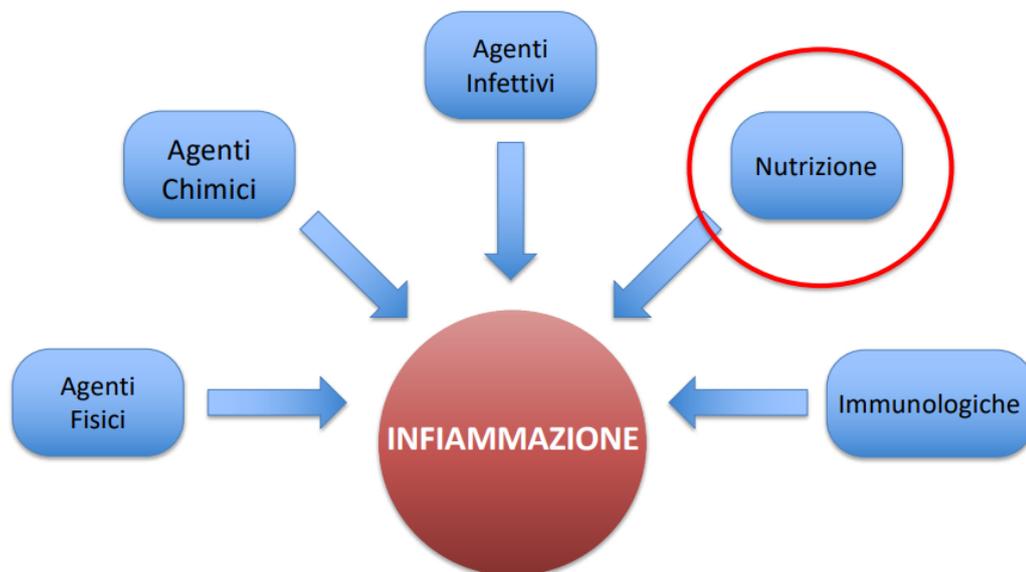


Figura 4: Stimoli in grado di attivare la risposta infiammatoria da parte dell'organismo. Tra essi compaiono le sostanze nutritive (in particolare alcuni glucidi e lipidi), responsabili dell'induzione dell'infiammazione metabolica, anche detta "metainfiammazione".

L'infiammazione può essere distinta in acuta o cronica (a seconda del tempo di durata e dell'esito del processo), e in locale o sistemica (in base al coinvolgimento di un singolo organo o dell'intero organismo). Tutte le risposte infiammatorie presentano in comune quattro attori:

- induttori di danno: possono essere segnali di danno esogeni o endogeni. Nell'obesità gli induttori di danno sono l'aumento del glucosio e degli acidi grassi liberi, l'ipossia del tessuto adiposo ipertrofico e i ROS (Radicali liberi dell'Ossigeno) che determinano la perossidazione lipidica e la necrosi adipocitaria con rilascio di DAMPs;
- sensori di danno: sono solitamente i macrofagi tissutali che, con appropriati recettori, avvertono la presenza degli induttori e avviano la produzione di mediatori dell'infiammazione. Nell'obesità i sensori di danno sono gli adipociti stessi e le cellule del sistema immunitario che popolano il WAT;
- mediatori d'infiammazione: i mediatori sono citochine e altre molecole che agiscono sui tessuti target della risposta infiammatoria alterandone lo stato funzionale e promuovendo l'eliminazione degli induttori di danno, l'adattamento allo stimolo nocivo e il ripristino dell'omeostasi. Nell'obesità importanti mediatori sono il TNF- $\alpha$  e l'IL-6 che, generate nel contesto

dell'adiposite cronica dell'obeso, rendono conto del coinvolgimento sistemico dell'organismo;

- organi target del processo infiammatorio: sono gli organi nei quali avviene la risposta infiammatoria o quelli coinvolti nella risposta sistemica agli induttori di flogosi. Nel caso dell'obesità la flogosi sistemica va a coinvolgere diversi organi e apparati rendendo conto delle complicanze del paziente obeso.

Gli organi coinvolti nella risposta infiammatoria possono essere caratterizzati da *functio laesa*: il sistema immunitario prende il controllo dell'organismo, ne altera il consueto funzionamento, elimina l'agente patogeno e ripristina l'omeostasi. In condizioni fisiologiche il corretto funzionamento di cellule, tessuti, organi e apparati è garantito dal sistema nervoso mediante l'azione dei neurotrasmettitori, e dal sistema endocrino mediante l'azione degli ormoni. Essi mantengono le variabili fisiologiche entro un range di valori distribuito attorno a un valore centrale detto "set-point". Tuttavia, quando l'omeostasi viene distrutta da una noxa tale da non poter essere compensata, il sistema nervoso e il sistema endocrino sono insufficienti per ristabilire l'equilibrio. È in queste condizioni che viene ingaggiato il sistema immunitario per eliminare la noxa patogena e ripristinare l'omeostasi attraverso la risposta infiammatoria. Per fare ciò, esso diviene dominante sull'ipotalamo e altera le funzioni dell'organismo in modo antagonista a quanto fatto dal sistema nervoso e dal sistema endocrino, elimina lo stimolo nocivo e ripristina l'equilibrio funzionale che si era rotto.(40)

#### **1.4.2 EVOLUZIONE DELLA RISPOSTA INFIAMMATORIA**

Il sistema immunitario si è evoluto in un ambiente estremamente diverso da quello in cui viene condotta la vita nei paesi industrializzati. L'uomo ha modificato l'ambiente in cui vive mediante l'agricoltura, l'allevamento, la costruzione di città, la diffusione dell'igiene; ha imparato a proteggersi mediante l'uso di vestiti, farmaci e antibiotici. L'ambiente in cui la risposta infiammatoria si è evoluta non esiste più, pertanto il sistema immunitario, ingaggiato inappropriatamente, causa la distruzione dell'omeostasi e l'alterazione dei set point delle variabili fisiologiche, promuovendo patologie come le allergie, le malattie autoimmuni, l'obesità, il diabete mellito, le malattie cardiovascolari, le malattie

neurodegenerative e il cancro (vedi Figura 5). Va notato come tutte queste siano patologie in cui viene coinvolto il sistema immunitario e viene distrutta l'omeostasi neuro-endocrina grazie allo sviluppo di un'inflammatione di basso grado sistemica. (40)

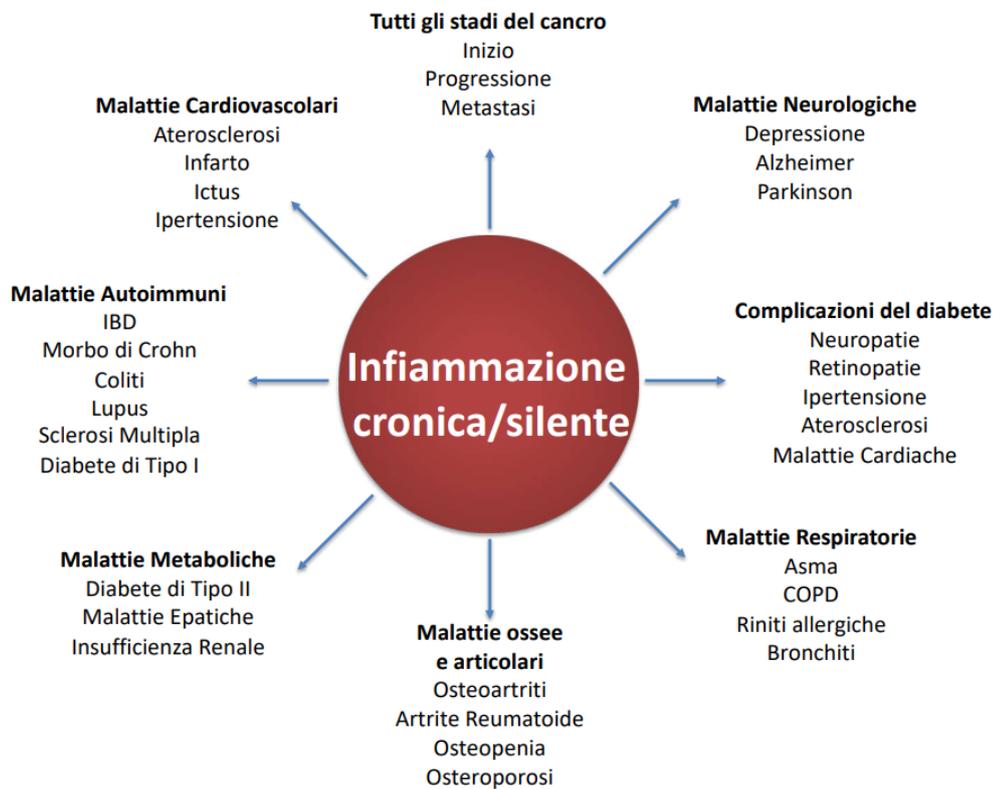


Figura 5: Patologie caratterizzate dalla presenza di inflammatione di basso grado sistemica. L'obesità è uno dei principali induttori di low grade inflammation, pertanto è implicata nella patogenesi della maggior parte delle patologie elencate.

### 1.4.3 ORGANO ADIPOSO COME MOTORE INFIAMMATORIO

Tra i principali induttori di inflammatione sistemica di basso grado compare l'organo adiposo che, in seguito all'alterazione dei circuiti ipotalamici dell'omeostasi metabolica, può accumulare grandi quantità di acidi grassi con conseguente ipertrofia. Il WAT caratterizzato da adipociti ipertrofici e un infiltrato infiammatorio linfomonocitario costituisce il reperto anatomico-patologico dell'obesità.(3)Esso è in grado di secernere citochine pro-infiammatorie come TNF $\alpha$  e IL-6 che agiscono a livello sistemico e possono indurre la comparsa di insulino-resistenza e altre complicanze organo-specifiche(41).

L'adipe sarebbe un organo originariamente preposto a colloquiare con l'ipotalamo per la regolazione del flusso di sostanze energetiche, ma nell'obeso cambia mansione e diviene un potente motore infiammatorio con impatto morbigeno sul decorso dell'obesità (vedi Figura 6).(3)

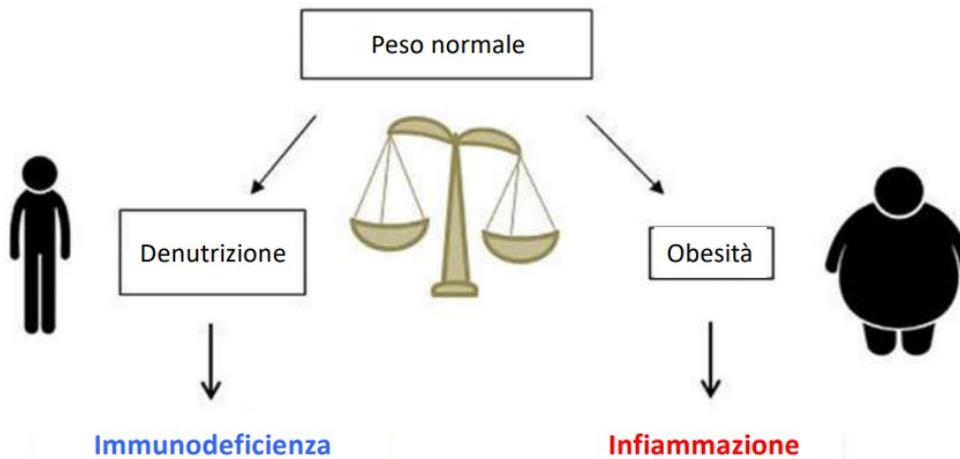


Figura 6: Modificazioni immunitarie innate e acquisite indotte dalla denutrizione e dall'obesità.

L'infiammazione sistemica dell'obeso guida lo sviluppo di insulino-resistenza, disfunzione endoteliale e ipertensione arteriosa, tutte condizioni che favoriscono a loro volta l'insorgenza di diabete mellito, aterosclerosi, asma bronchiale e alcune forme di cancro. (42)

#### 1.4.4 INDUZIONE DELLA FLOGOSI DEL WAT: IL RUOLO DELLA NECROSI ADIPOCITARIA

Se è vero che l'infiammazione del WAT (adiposite) è fondamentale per determinare il quadro di flogosi sistemica che guida la comparsa delle complicanze dell'obesità, va chiarito in che modo tale risposta infiammatoria venga innescata. Diversi meccanismi sono stati proposti come trigger del processo flogistico. Non sono mutualmente esclusivi e si pensa possano lavorare in modo sinergico.(43)

Nel soggetto obeso l'aumentato flusso di nutrienti in entrata determina l'ipertrofia e l'iperplasia degli adipociti con aumento macroscopico e microscopico della massa dell'organo adiposo e parziale ipossia tissutale derivante da una relativa insufficienza nella vascolarizzazione del tessuto ipertrofico. Raggiunto un certo

grado di ipertrofia, l'adipocita va incontro a stress del reticolo endoplasmatico e produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), attiva le pathway infiammatorie intracellulari e inizia a secernere sostanze pro-infiammatorie. Tale secrezione è massima dove gli adipociti sono più ipertrofici, ovvero nel grasso omentale (44,45). Inoltre, non bisogna dimenticare come il glucosio e i FFA (Free Fatty Acids), aumentati nel soggetto obeso, siano autonomamente in grado di indurre l'attivazione degli inflammosomi e delle pathway infiammatorie intracellulari agendo direttamente sul recettore di membrana TLR-4 (Toll-Like-Receptor-4), espresso anche dagli adipociti.(39) L'ipossia è un altro attivatore dell'infiammazione e nell'obesità gioca un ruolo importante. In seguito all'ipertrofia del WAT si riduce la densità di capillari adiposi con conseguente riduzione della perfusione tissutale. A livello citologico diminuisce la pO<sub>2</sub> citoplasmatica con sofferenza adipocitaria e attivazione del fattore di trascrizione HIF-1 $\alpha$  che induce l'espressione di geni per le chemochine (molecole che richiamano i macrofagi nel WAT)(46). All'ipossia cellulare fa seguito anche l'aumento della produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) da parte dei mitocondri con perossidazione lipidica e necrosi adipocitaria. Il rilascio di DAMPs comporta l'attivazione dei macrofagi residenti nel tessuto adiposo e delle cellule endoteliali, con infiltrazione di ulteriori macrofagi e sviluppo di un'adiposite cronica(42,47). La Figura 7 riassume il processo appena descritto.

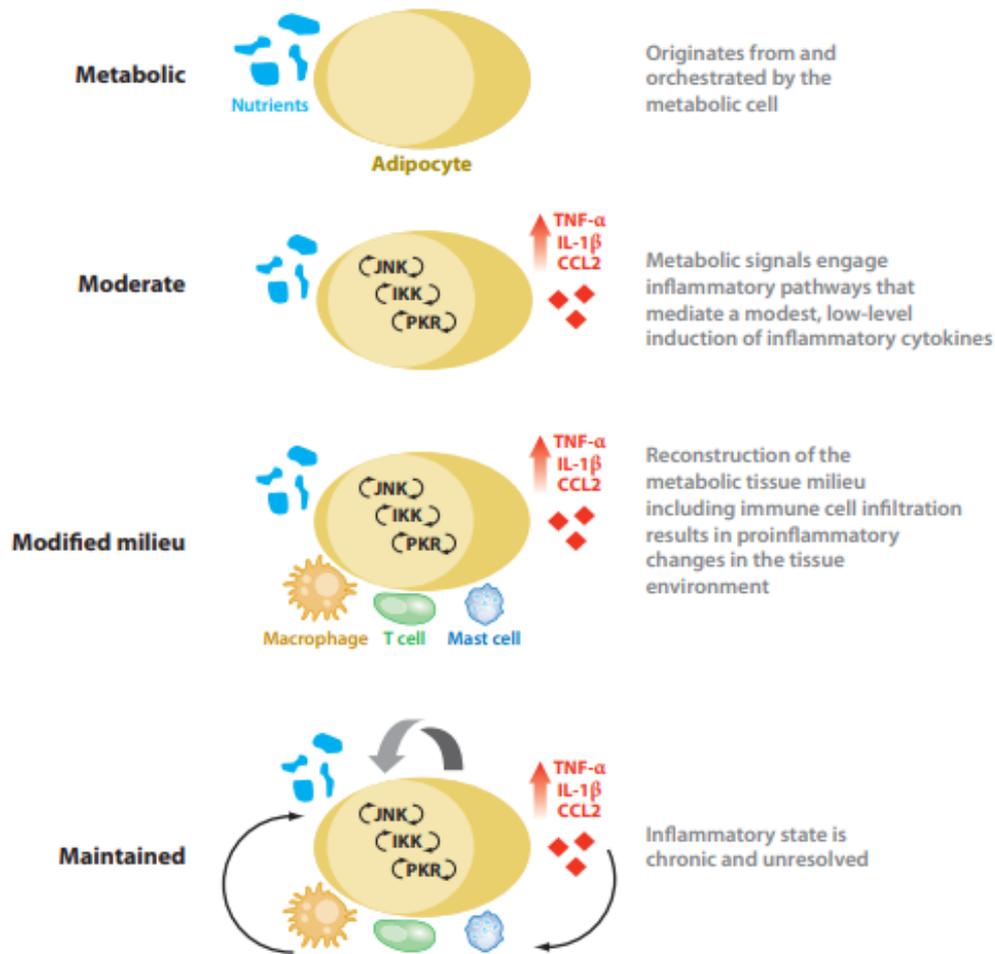


Figura 7: Patogenesi della flogosi cronica del WAT dell'obeso. JNK, IKK e PKR sono proteine implicate nelle pathway che attivano programmi genici pro-infiammatori. TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  sono citochine pro-infiammatorie secrete dall'adipocita disfunzionale in seguito all'eccesso di nutrienti. CCL2 è una chemochina implicata nel richiamo di cellule infiammatorie nel WAT. Immagine tratta da Gregor et al. (48).

#### 1.4.5 RECLUTAMENTO E FUNZIONE DELLE CELLULE IMMUNITARIE NEL WAT

L'innesco dell'infiammazione del WAT è seguito dal reclutamento di monociti dal sangue. Il mediatore di tale processo è la citochina MCP-1 (Proteina della Chemiotassi Monocitaria-1) e la successiva azione di M-CSF (Fattore di Stimolazione delle Colonie dei Macrofagi) favorisce la conversione dei monociti in macrofagi.

I macrofagi presenti nel WAT dell'obeso non sono soltanto più numerosi rispetto a quelli del soggetto sano, ma presentano anche differenze funzionali. Da un punto di vista numerico, fisiologicamente i macrofagi costituiscono il 10-15%

delle cellule del WAT, mentre nel soggetto obeso possono aumentare fino a raggiungere il 40% (43). Da un punto di vista funzionale il soggetto magro presenta macrofagi M2, secernenti prevalentemente citochine antinfiammatorie tra cui IL-10. I macrofagi dell'obeso sono invece per lo più M1 e secernono prevalentemente citochine pro-infiammatorie. Lo switch M2→ M1 sembra indotto dall'attività dell'adipocita ipertrofico e dal cambiamento delle molecole da esso secrete nello stroma circostante (49). Inoltre, aumenta la secrezione di leptina e diminuisce quella di adiponectina. Queste molecole, oltre ad essere degli ormoni con azione sistemica, sono anche delle citochine ad azione locale. In particolare, l'adiponectina è una citochina antinfiammatoria, mentre la leptina è pro-infiammatoria. Anche questo switch contribuisce a determinare l'infiammazione del WAT.

I macrofagi sono le più abbondanti cellule immunitarie del WAT e tendono ad accumularsi in strutture "a corona" disposte intorno agli adipociti necrotici(50). Vi sono tuttavia anche altre cellule che infiltrano il WAT dell'obeso. I linfociti T CD8+ sono abbondanti e promuovono la chemiotassi monocitaria e il successivo differenziamento dei monociti in macrofagi. I linfociti CD4+ T-Helper-1 (Th1) favoriscono lo stato pro-infiammatorio secernendo IFN- $\gamma$  (Interferone- $\gamma$ )(51). Il numero di linfociti T-Regolatori (TREG) diminuisce promuovendo la flogosi cronica mediata dai macrofagi (52). Altre cellule immunitarie presenti sono mastociti, neutrofili, eosinofili, cellule NK e linfociti B. Esse partecipano al reclutamento dei macrofagi e allo switch fenotipico da M2 a M1. (43)

La Figura 8 mostra l'evoluzione morfo-funzionale cui va incontro il WAT del soggetto obeso. Si notano adipociti ipertrofici, adipociti necrotici e infiltrato infiammatorio composto prevalentemente da macrofagi, cellule dendritiche, neutrofili, mastociti, linfociti CD4+ Th1, linfociti B e linfociti T CD8+ (53). La condizione di infiltrato infiammatorio nel contesto del WAT viene definita con il termine "adiposite", ovvero "infiammazione dell'organo adiposo".

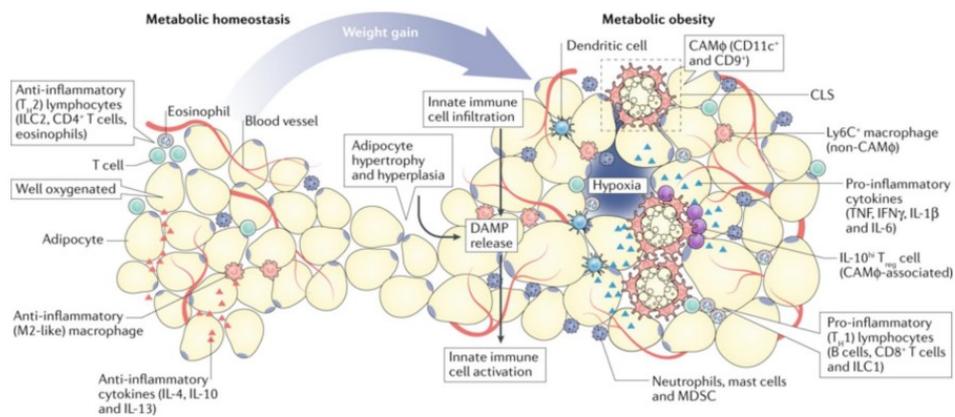


Figura 8: Modificazioni anatomo-patologiche del WAT dell'obeso: gli adipociti divengono ipertrofici e necrotici, l'infiltrato linfomonocitario si polarizza in senso pro-infiammatorio con linfociti Th1 e macrofagi M1. L'ipertrofia e l'iperplasia degli adipociti favoriscono lo sviluppo di aree ipossiche con sofferenza adipocitaria e neoangiogenesi compensatoria. Immagine tratta da Quail et al. (54).

#### 1.4.6 ADIPOSITE CRONICA: IL CIRCOLO VIZIOSO DEL PAZIENTE OBESO

L'infiammazione del WAT nel paziente obeso è un processo cronico che tende ad automantenersi. La Figura 9 riassume graficamente i concetti chiave del processo. L'eccessiva assunzione di glucosio e acidi grassi protratta nel tempo rende conto dell'ipertrofia degli adipociti, dell'aumento della sintesi di ROS e della conseguente perossidazione lipidica delle membrane cellulari con necrosi adipocitaria. I DAMPs rilasciati attivano i macrofagi e le altre cellule immunitarie del WAT che rilasciano numerose citochine (tra cui TNF- $\alpha$  e IL-6) che agiscono localmente e in modo sistemico. Le citochine agiscono a livello ipotalamico deregolando i meccanismi di controllo dell'asse cervello-adipe con aumento del senso di fame e riduzione del senso di sazietà. Questo porta ad incrementare l'assunzione di glucidi e lipidi che aumentano a loro volta l'ipertrofia del WAT, con aumento della necrosi adipocitaria e quindi della risposta infiammatoria macrofagica. Si genera un circolo vizioso in cui l'aumento dell'assunzione di cibo determina un aumento della massa adipocitaria con aumento della necrosi adipocitaria e ulteriore aumento della flogosi sistemica, un loop da cui è difficile uscire e che potrebbe spiegare come mai sia difficile curare l'obesità esclusivamente attraverso la dieta ipocalorica(42).

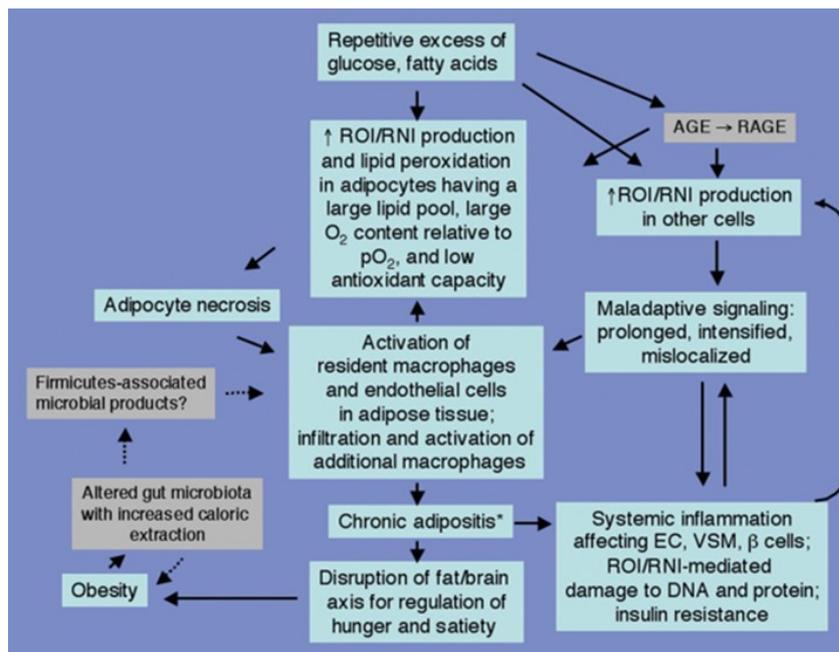


Figura 9: Il circolo vizioso del paziente obeso: la flogosi cronica porta alla distruzione dell'asse fat/brain con aumento dell'assunzione di cibo e peggioramento dello stato flogistico. Immagine tratta da Nathan(42).

#### 1.4.7 INFIAMMAZIONE SISTEMICA DI BASSO GRADO E SVILUPPO DI INSULINO-RESISTENZA

La flogosi adipe-specifica diviene una condizione sistemica mediante la secrezione delle citochine TNF $\alpha$  e IL-6 da parte dei macrofagi attivati e degli adipociti sofferenti (42). L'azione sistemica delle citochine è uno dei fattori che rende conto delle diverse complicanze dell'obesità. Una delle principali conseguenze della low-grade-inflammation è lo sviluppo di insulino-resistenza, una delle componenti cardine della sindrome metabolica e delle complicanze dell'obeso. Con insulino-resistenza si intende l'incapacità dei tessuti bersaglio di rispondere normalmente all'insulina (37). Gli organi principalmente colpiti sono il fegato, il muscolo scheletrico e il WAT:

- nel fegato l'insulino-resistenza rende conto dell'incapacità di sopprimere la gluconeogenesi con elevazione della glicemia a digiuno (37);
- nel muscolo scheletrico l'insulino-resistenza rende conto dell'incapacità di assorbire il glucosio ematico e di accumularlo come glicogeno mediante glicogeno-sintesi. Ciò contribuisce all'aumento della glicemia post-prandiale (37);

- nel WAT l'insulino-resistenza rende conto dell'incapacità di inibire la lipasi lipoproteica adipocitaria, con aumento degli acidi grassi liberi ematici (FFA) che portano a loro volta a un aumento dell'insulino-resistenza (37).

L'obesità contribuisce con diversi meccanismi all'insorgenza dell'insulino-resistenza. I principali mediatori coinvolti sono:

- acidi grassi liberi (FFA): esiste una correlazione inversa tra FFA a digiuno e sensibilità insulinica. L'eccesso di FFA sovraccarica le vie di ossidazione degli acidi grassi intracellulari portando all'accumulo citoplasmatico di DAG (diacil-glicerolo) che interferisce con la via di segnale dell'insulina. Inoltre, l'eccesso di FFA all'interno dei macrofagi può attivare l'inflammosoma con aumento della secrezione di IL-1 $\beta$ . Per via della relazione tra metabolismo e infiammazione è stato coniato il termine "meta-infiammazione" (37);
- adipochine: nell'obeso si assiste ad un aumento di leptina e resistina, e a una riduzione dell'adiponectina. L'aumento di resistina e la diminuzione di adiponectina sembrano correlati all'aumento di resistenza all'insulina, anche se il ruolo della resistina non è stato ancora chiarito del tutto (37);
- citochine pro-infiammatorie: TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  hanno un importante ruolo nello sviluppo dell'insulino-resistenza. TNF $\alpha$  promuove la fosforilazione inibitoria di IRS ("Substrato del Recettore Insulinico"), una proteina a valle del recettore dell'insulina, e inibisce l'espressione di PPAR $\gamma$ , fattore di trascrizione fondamentale per il mantenimento della sensibilità insulinica. Gli effetti di TNF $\alpha$  non sono mediati solamente dall'aumento dei suoi livelli ematici, ma anche dall'aumento della produzione locale nel fegato e nel muscolo scheletrico (43). Anche IL-6 media lo sviluppo di alcune complicanze sistemiche dell'obesità. Elevate concentrazioni di IL-6 inibiscono l'effetto dell'insulina negli organi bersaglio aumentando l'espressione di SOCS-3 (Suppressor Of Cytokine Signalling-3). Tale proteina agisce a livello citosolico andando a inibire il recettore dell'insulina e la fosforilazione di IRS-1 (Insulin-Receptor-Substrate-1) da parte di esso(55). L'aumento nella secrezione di IL-1 $\beta$  da parte dei macrofagi pancreatici si associa soprattutto a un'alterata secrezione di insulina da parte delle  $\beta$ -cellule, tuttavia si può ipotizzare il suo coinvolgimento anche nello sviluppo dell'insulino-resistenza

a livello sistemico (43). La Tabella I mostra i cambiamenti nel profilo citochinico e ormonale presenti nel soggetto obeso.

Negli ultimi anni è stato studiato anche il ruolo nell'indurre insulino-resistenza delle vescicole extracellulari secrete dai macrofagi del WAT, i così detti "esosomi". Essi contengono un gran numero di proteine, lipidi, miRNA, mRNA ed RNA non codificanti. Gli esosomi dei soggetti affetti da obesità presentano aumentati livelli di alcuni miRNA che interagiscono negativamente con la via del segnale insulinico (56). Un esempio è dato dal miR-155 che nelle cellule bersaglio va ad inibire l'espressione del fattore di trascrizione PPAR- $\gamma$ , fondamentale per la sensibilità all'insulina (57).

<b>Adipochina</b>	<b>Funzione</b>	<b>Modificazioni nell'obesità</b>
<b>Leptina</b>	Regola il comportamento alimentare attivando i centri della sazietà ipotalamici.	È aumentata ma si ha leptino-resistenza. Stimola il rilascio di citochine pro-infiammatorie, l'attivazione dei macrofagi M1 e dei linfociti Th1/Th17.
<b>Adiponectina</b>	Agisce sul metabolismo glucidico e lipidico aumentando la sensibilità cellulare all'insulina. È una molecola antinfiammatoria e immunomodulante.	È ridotta e ciò contribuisce allo sviluppo di insulino-resistenza.
<b>IL-6</b>	Citochina pro-infiammatoria con azione pleiotropica sistemica.	È aumentata favorendo lo sviluppo dell'infiammazione sistemica di basso grado.
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Citochina pro-infiammatoria che in alcuni contesti media la necrosi tumorale. Aumenta la lipolisi e diminuisce la sensibilità all'insulina.	È aumentata favorendo lo sviluppo dell'infiammazione sistemica di basso grado e dell'insulino-resistenza
<b>Resistina</b>	La funzione non è del tutto chiara. Sembra aumentare la resistenza all'insulina.	È aumentata e favorisce la secrezione di altre citochine pro-infiammatorie.
<b>IL-10</b>	Citochina immunomodulante che diminuisce la secrezione di citochine pro-infiammatorie e la funzione dei macrofagi polarizzandoli in senso M2. Riduce il rilascio di ROS e la citotossicità dei linfociti T CD8+.	È ridotta, motivo per cui i macrofagi sono polarizzati in senso M1 e i linfociti in senso Th1 e Th17.
<b>CCL2</b>	Chemochina con effetto immunomodulatore nel WAT.	Aumenta favorendo la diapedesi delle cellule infiammatorie circolanti e lo sviluppo dell'adiposità cronica.

Tabella I: Funzioni fisiologiche e modificazioni fisiopatologiche del profilo citochinico nel soggetto obeso. Tabella modificata da Sharma et al. (58).



## **1.5 RUOLO DELLA LOW-GRADE INFLAMMATION NELLE COMPLICANZE SISTEMICHE DELL'OBESITÀ**

L'obesità è caratterizzata da alterazioni endocrine, autonome e immunologiche. Nei seguenti paragrafi ci si concentrerà sul ruolo del sistema immunitario innato nella patogenesi delle complicanze organo-specifiche dell'obesità.

### **1.5.1 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE ENDOCRINO-METABOLICHE**

L'obesità è una malattia endocrino-metabolica, ed endocrino-metaboliche sono le sue principali complicanze che possono essere comprese alla luce del concetto di sindrome metabolica. Secondo la WHO, con "sindrome metabolica" si intende una condizione patologica caratterizzata da obesità addominale, insulino-resistenza, ipertensione arteriosa e iperlipemia. La sua correlazione con l'obesità e la low grade inflammation è mediata dalle citochine pro-infiammatorie che partecipano alla patogenesi di tutte le componenti della sindrome metabolica. Secondo la definizione ATP III del 2001 è possibile fare diagnosi di sindrome metabolica se in un paziente sono presenti tre o più tra i seguenti criteri:

- circonferenza vita  $\geq 88$  cm nella donna o  $\geq 102$  cm nell'uomo (indicatori di obesità addominale);
- trigliceridi  $> 150$  mg/dl o trattamento in atto per ipertrigliceridemia;
- HDL-C  $< 40$  mg/dl nell'uomo,  $< 50$  mg/dl nella donna o terapia farmacologica specifica;
- pressione arteriosa  $\geq 135/85$  mmHg o trattamento farmacologico in atto;
- glicemia a digiuno  $\geq 100$  mg/dl o terapia farmacologica specifica, o precedente diagnosi di diabete mellito di tipo 2.

Nel corso del tempo altre anomalie metaboliche sono entrate a far parte della definizione di sindrome metabolica, incluse la microalbuminuria, l'iperuricemia, le anomalie della coagulazione e le altre anomalie lipidiche come l'incremento delle LDL piccole e dense(59). La sindrome metabolica viene causata dall'obesità viscerale e dall'insulino-resistenza, che giocano un ruolo chiave nell'insorgenza

del diabete mellito, delle dislipidemie e dell'ipertensione arteriosa sistemica (Figura 10).

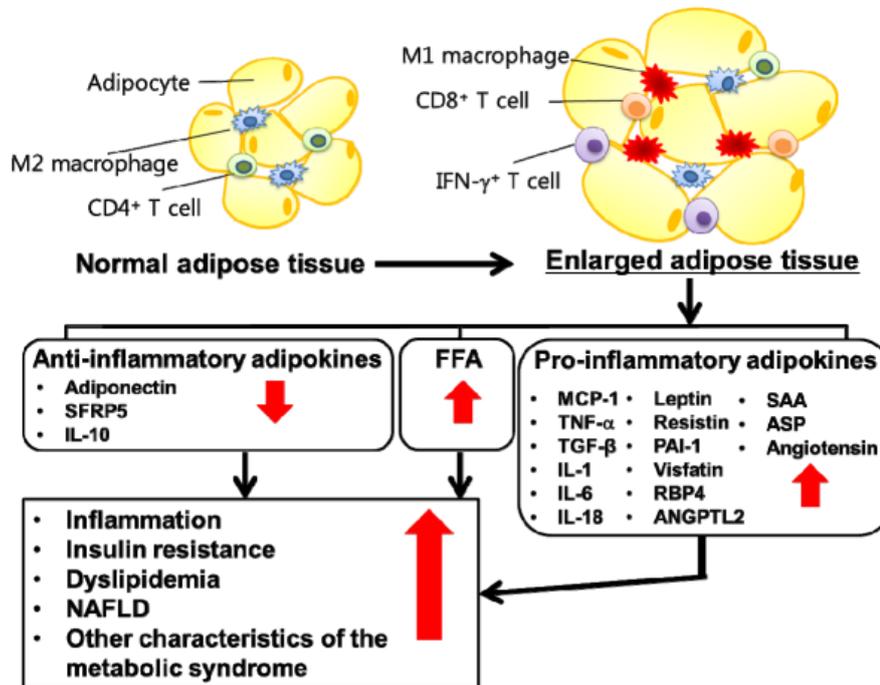


Figura 10: Correlazione tra obesità, infiammazione, sindrome metabolica e complicanze metaboliche sistemiche. Immagine tratta da Jung et al.(60).

Oltre alle endocrinopatie del metabolismo, nel paziente obeso si possono osservare anche endocrinopatie della riproduzione. Nell'organismo di sesso maschile si ha un ipogonadismo con riduzione del testosterone plasmatico e della SHBG (Sex Hormone-Binding Globulin), mentre i livelli degli estrogeni, derivati dalla conversione degli androgeni surrenalici nel WAT ipertrofico, sono aumentati. Si può riscontrare ginecomastia, tuttavia mascolinizzazione, libido, potenza sessuale e spermatogenesi possono essere normali in molti pazienti nonostante l'iperestrogenismo(21). Nell'organismo di sesso femminile l'obesità è associata a disturbi mestruali, aumento della produzione di androgeni, riduzione della SHBG e aumento della conversione periferica di androgeni in estrogeni. Molte donne obese con oligomenorrea sono affette da sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) con associata anevoluzione e iperandrogenismo ovarico. Numerose donne con PCOS non obese sono insulino-resistenti, suggerendo che l'insulino-resistenza, l'iperinsulinemia o la loro combinazione siano la causa o contribuiscano alla fisiopatologia della PCOS. L'aumento della conversione di

androstenedione in estrogeno nelle donne con obesità pelviforme può contribuire a un aumento dell'incidenza di cancro dell'utero durante la menopausa(21). Ci si concentrerà tuttavia sulle complicanze endocrinologiche di natura metabolica che hanno un forte impatto sullo sviluppo delle complicanze cardio-vascolari dell'obesità.

### **1.5.1.1 DIABETE MELLITO DI TIPO 2 NEL PAZIENTE OBESO**

Il diabete mellito di tipo 2 (DM2) è una malattia complessa multifattoriale che coinvolge fattori genetici, ambientali e uno stato infiammatorio cronico non autoimmune. Nel tempo il DM2 si complica con malattie microvascolari (nefropatia diabetica, retinopatia diabetica, neuropatia diabetica), macrovascolari (stroke cerebrali, sindromi coronariche, arteriopatie periferiche), scompenso cardiaco e NAFLD (Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease). Inoltre, può contribuire alla progressione della malattia di Alzheimer, della sindrome dell'ovaio policistico, della gotta, dell'artrite reumatoide e di altre patologie mediate da flogosi cronica(43). I due difetti metabolici fondamentali che caratterizzano il DM2 sono:

- una ridotta capacità dei tessuti periferici, specialmente del muscolo scheletrico, del fegato e del WAT, di rispondere all'insulina (insulino-resistenza)(37);
- un'inadeguata secrezione di insulina in risposta all'insulino-resistenza e all'iperglicemia (disfunzione delle  $\beta$ -cellule)(37).

La low grade inflammation del WAT gioca un ruolo sia nella determinazione dell'insulino-resistenza, sia della disfunzione delle  $\beta$ -cellule (anche se questa è prevalentemente mediata dall'azione locale dell'IL-1 $\beta$ ). Dal momento che è già stato trattato il ruolo delle citochine e delle adipochine del WAT nell'induzione dell'insulino-resistenza a livello sistemico, si prenderà in considerazione il ruolo dell'infiammazione nell'induzione della disfunzione delle  $\beta$ -cellule.

Nel pancreas di un soggetto affetto da DM2 si riscontra un aumento nel numero di cellule del sistema immunitario innato, di citochine e chemochine(61,62). L'aumento delle cellule immunitarie si riscontra sia nelle isole di Langerhans, sia nella componente pancreatica esocrina(63). Alcuni studi di laboratorio condotti su

ratti KO per il recettore della leptina hanno mostrato una flogosi delle isole di Langerhans (insulite) con un aumento dei macrofagi insulari, probabilmente derivato dalla proliferazione dei macrofagi residenti(64). Tali cellule, in seguito all'attivazione dell'inflammosoma NLRP3 stimolato da acidi grassi liberi, glucosio e depositi di polipeptidi amiloidi insulari, secernono IL-1 $\beta$ (62,65–67). Sebbene questa citochina potenzi acutamente il rilascio di insulina, l'esposizione cronica delle  $\beta$ -cellule all'IL-1 $\beta$  conduce ad un esaurimento della funzione secretiva con insufficienza pancreatica endocrina e comparsa di iperglicemia. Bloccando sperimentalmente la pathway di IL-1 $\beta$  mediante un IL-1 $\beta$ -R antagonista si assiste ad un miglioramento nella secrezione insulinica da parte delle  $\beta$ -cellule con miglioramento della glicemia(68,69). Inoltre, come visto per i macrofagi infiltranti il WAT del soggetto obeso, anche le  $\beta$ -cellule pancreatiche possono rilasciare esosomi in risposta a stimoli infiammatori. Essi contengono il miR-21-5p che induce l'apoptosi delle cellule circostanti(70–72). Un altro importante aspetto dell'insulite nel DM2 è la presenza di amiloidosi insulare causata dall'accumulo extracellulare di polipeptide amiloide, un forte induttore dell'inflammosoma e quindi dell'IL-1 $\beta$ (66). In risposta all'amiloidosi pancreatica non solo si ha un'attivazione dei macrofagi insulari, ma anche un ulteriore richiamo di monociti circolanti, ampliando il quadro di flogosi pancreatica. Per spiegare l'insorgenza della disfunzione delle  $\beta$ -cellule non si dimentichi l'azione diretta dei lipidi (lipotossicità) e dei glucidi (glucotossicità), aumentati come conseguenza dell'insulino-resistenza, che compromettono a loro volta la funzione insulare(37). Si possono quindi fare delle similitudini tra l'istologia del WAT dell'obeso e quella del pancreas del DM2: in entrambi i casi si osserva una flogosi tissutale con alterazione funzionale delle cellule nobili (gli adipociti e le  $\beta$ -cellule) in un microambiente ricco di citochine e chemochine (vedi Figura 11).

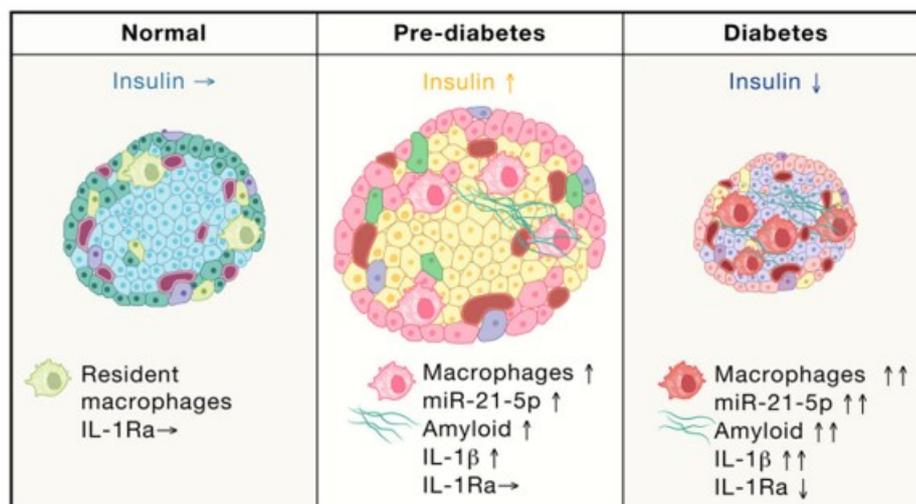


Figura 11: Modificazioni istologiche e molecolari riscontrate nella progressione da pancreas sano a diabete mellito di tipo 2. Immagine tratta da Rohm et al.(43).

Se il danno pancreatico nel DM2 è prevalentemente dovuto all'azione locale dell'IL-1 $\beta$  che porta a disfunzione ed esaurimento  $\beta$ -cellulare, a livello sistemico prevale l'azione delle citochine e degli ormoni adipocitari che rendono le cellule bersaglio resistenti all'azione dell'insulina.

La flogosi presenta un ruolo chiave anche nello sviluppo delle complicanze microvascolari del DM2. Nella patogenesi della retinopatia diabetica e dell'edema maculare, la flogosi retinica cronica si trova sin dalle prime fasi(73). Le citochine implicate sono IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  che, assieme all'iperglicemia, danneggiano i vasi retinici e distruggono la barriera emato-retinica con conseguente edema maculare e neoangiogenesi mediata dall'aumento di VEGF. Nella nefropatia diabetica l'infiammazione partecipa nell'induzione e nella progressione della malattia mediante l'attivazione dell'inflammosoma NLRP3 con secrezione di IL-1 $\beta$ (74–77). Gli stessi meccanismi, anche se meno studiati, si possono riscontrare nella neuropatia diabetica e in una sua importante complicanza: il piede diabetico(78–81).

La Figura 12riassume il ruolo della flogosi nel diabete mellito e nelle sue complicanze (43). Il quadro infiammatorio sistemico causato dal WAT dell'obeso agisce in modo sinergico all'infiammazione pancreas-specifica e determina lo sviluppo periferico di insulino-resistenza, contribuendo da protagonista alla patogenesi del diabete mellito di tipo 2.

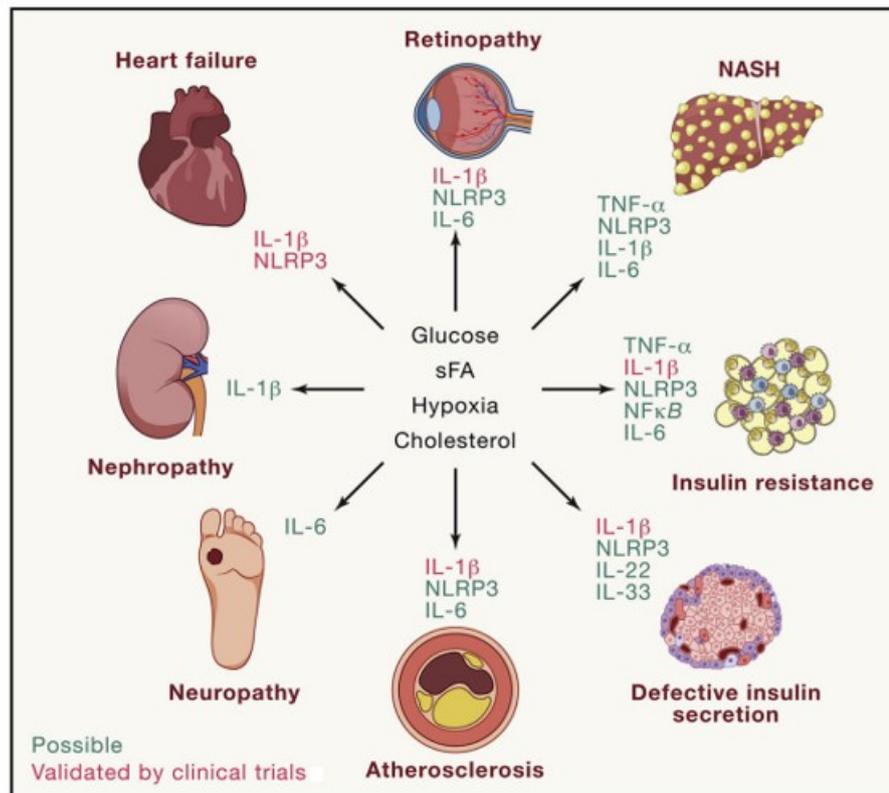


Figura 12: Ruolo dell'infiammazione sistemica nella patogenesi del diabete mellito e delle sue complicanze. Le citochine riportate in rosso sono quelle contro le quali si sono sviluppati farmaci da usare nella terapia delle malattie metaboliche, mentre quelle riportate in verde sono quelle che potrebbero essere targhettate in futuro a scopo terapeutico. Immagine tratta da Rohm et al. (43).

### 1.5.1.2 DISLIPIDEMIE NEL PAZIENTE OBESO

L'obesità è correlata a un aumento della prevalenza di dislipidemie. Le dislipidemie sono un gruppo di patologie caratterizzate da un anormale aumento del colesterolo e/o dei trigliceridi ematici e rappresentano un importante fattore di rischio cardiovascolare. Nell'obesità si possono osservare un aumento degli acidi grassi liberi (FFA) e dei trigliceridi, una diminuzione delle HDL e un'alterata composizione delle LDL(60).

Si assiste ad un aumento del rilascio di FFA da parte del WAT ipertrofico mediante lipolisi. Il fegato risponde all'aumento di FFA incrementando la sintesi di VLDL ricche in trigliceridi. Inoltre, l'aumento di FFA induce una riduzione dell'espressione di LPL (Lipo-Protein-Lipasi) adipocitaria e muscolare con inibizione della lisi dei chilomicroni e sviluppo di ipertrigliceridemia. L'ipertrigliceridemia stimola il passaggio di trigliceridi in cambio di colesterolo



colesterolemia totale e del colesterolo-LDL, effetto condiviso anche con IL-1 $\beta$ (83). L'ormone adipocitario adiponectina è invece correlato negativamente con l'ipertrigliceridemia e positivamente con l'aumento del colesterolo-HDL. Stimola l'ossidazione degli acidi grassi e del glucosio a livello muscolare e nel fegato mediante l'attivazione di AMPK, e attiva LPL contribuendo alla clearance delle VLDL e alla riduzione dei livelli ematici di trigliceridi. La diminuzione dei livelli circolanti di adiponectina si associa all'insorgenza di dislipidemie e patologie cardiovascolari(84).

### **1.5.1.3 IPERTENSIONE ARTERIOSA NEL PAZIENTE OBESO**

L'ipertensione arteriosa (HTN) è una malattia multifattoriale dovuta a diversi fattori genetici ed ambientali. In circa il 95% dei casi è idiopatica in quanto non se ne conoscono precisamente le cause. Anche se non si è a conoscenza dei meccanismi specifici, è ragionevole pensare che molteplici piccoli cambiamenti dell'omeostasi renale del sodio, e del tono o della struttura della parete vasale agiscano in maniera combinata causando l'HTN essenziale. Il 5% delle ipertensioni a causa determinabile è secondario a patologie renali, endocrine o alla sindrome delle apnee ostruttive del sonno (un'altra complicanza dell'obesità)(37). Indipendentemente dall'eziologia, sempre maggiori evidenze suggeriscono il ruolo dell'infiammazione e del sistema immunitario nella patogenesi dell'ipertensione(85). Gli organi principalmente coinvolti nella regolazione della pressione arteriosa sono il rene, il sistema nervoso centrale e i vasi sanguigni. L'infiammazione impatta su ciascuna di queste tre componenti(86).

L'HTN è la più comune complicanza dell'obesità e rappresenta il 70% delle complicanze presenti nei pazienti obesi. Nonostante l'elevata prevalenza, i meccanismi che mettono in relazione l'obesità con lo sviluppo di HTN non sono stati ancora definitivamente compresi. Tra i fattori implicati vi sono l'aumento della leptina, l'aumento del tono simpatico, l'aumento dell'insulina, l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, la riduzione dei peptidi natriuretici atriali, la compressione meccanica del rene da parte del WAT retroperitoneale ipertrofico e la flogosi sistemica e organo-specifica (Figura 14)(87).

Factor	Action
Leptin	Suppresses appetite, causes early satiety, decreases food intake, lowers body weight, and decreases insulin resistance, leading to lower BP
SNS	Obesity is associated with increased sympathetic and decreased parasympathetic activity. These actions lead to peripheral vasoconstriction, increase in peripheral vascular resistance and increase in BP
RAAS	Adipocytes contain AGT and exert their paracrine action by the local production of Ang II through independent pathways, and by the local release of aldosterone. They also have aldosterone receptors. These actions mediate the BP rising effects of RAAS
NPs	NPs have potent diuretic, natriuretic and lipolytic effects, but their plasma levels are depressed in obesity. Exercise, weight loss and neprilysin inhibitors increase their plasma levels
Renal compression	Increase in intra-abdominal and retroperitoneal fat causes renal compression, increases intrarenal pressure, decreases sodium excretion and stimulates the RAAS

NPs, natriuretic peptides; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone system; SNS, sympathetic nervous system.

*Figura 14: Ruolo degli ormoni del WAT e del sistema nervoso simpatico nella patogenesi dell'HTN correlata all'obesità. L'azione riportata per l'ormone leptina è parzialmente corretta, in quanto l'iperleptinemia si associa a un aumento dell'insulino-resistenza e allo sviluppo di HTN, mentre nella figura si riporta il contrario. Immagine tratta da Chrysant et al. (87).*

Tra i fattori neuro-endocrini un ruolo centrale lo gioca la leptina, l'ormone prodotto dagli adipociti in risposta all'aumento dei trigliceridi immagazzinati. Agisce a livello ipotalamico stimolando i centri della sazietà. La sua funzione, tuttavia, non si limita a questo in quanto, sempre agendo a livello ipotalamico, è in grado di indurre una risposta autonoma simpatica che si associa all'aumento della pressione arteriosa. Livelli aumentati di leptina ematica sono associati a HTN sia nell'uomo che nella donna(88). L'effetto sembra coinvolgere il recettore ipotalamico MC<sub>4</sub>R. Alcuni esperimenti di laboratorio hanno mostrato che topi Knock-Out per il recettore della melanocortina MC<sub>4</sub>R non sviluppano HTN nonostante la presenza di obesità ed iperleptinemia, suggerendo come questa pathway sia cruciale per lo sviluppo dell'ipertensione leptino-mediata(89). L'effetto della leptina è mediato dall'attivazione del sistema nervoso simpatico con rilascio di noradrenalina. In risposta all'incremento ponderale si assiste quindi a un aumento compensatorio del tono simpatico e a una riduzione del parasimpatico. Tuttavia, la cronicizzazione della stimolazione simpatica porta a vasocostrizione periferica, aumento delle resistenze vascolari, della frequenza cardiaca e del riassorbimento renale di sodio(90). All'azione della noradrenalina si va a sommare quella dell'endotelina, ormone ipersecreto nel paziente obeso, che

mediante l'azione sui recettori  $ET_A$  potenzia la vasocostrizione arteriosa. L'obesità è notoriamente associata anche a insulino-resistenza e iperinsulinemia, e l'eccesso di insulina è una delle cause di ritenzione di sodio, espansione della volemia, aumento del rilascio di noradrenalina e proliferazione della muscolatura liscia, tutte caratteristiche tipiche dell'HTN(37).

Gli adipociti dell'obeso, oltre ad aumentare la secrezione di leptina, aumentano anche quella di angiotensinogeno. L'angiotensinogeno è il precursore dell'angiotensina, potente ormone vasocostrittore del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS). Nonostante sia caratterizzato da un'espansione basale della volemia e quindi dei valori pressori, il paziente obeso presenta anche un aumento dell'attività plasmatica della renina, dell'angiotensina e dell'aldosterone con costrizione dell'arteriola efferente glomerulare, aumento della pressione di filtrazione intra-glomerulare, perdita di nefroni e diminuzione dell'escrezione renale di sodio e acqua. Ne deriva un ulteriore aumento del tono vascolare e della volemia con sviluppo di HTN.

L'ultimo gruppo di ormoni coinvolto nella patogenesi dell'HTN nell'obeso è quello dei peptidi natriuretici (ANP, BNP e CNP). Essi sono prodotti dal cuore, dal cervello e dai reni con un ruolo predominante delle camere cardiache. Esercitano una funzione vasodilatatrice, diuretica e natriuretica legando i recettori NPR-A, NPR-B e NPR-C. ANP e BNP vengono secreti dalle pareti degli atri e dei ventricoli in risposta allo stiramento meccanico causato dall'aumento della pressione intra-cardiaca. CNP è prevalentemente secreto dall'endotelio vascolare e causa vasodilatazione con diminuzione delle resistenze vascolari. Le loro concentrazioni nell'obesità sono fortemente ridotte in quanto vengono inattivati dalla neprilisina, endopeptidasi la cui espressione è aumentata nel soggetto obeso. Un altro effetto benefico dei peptidi natriuretici, che viene meno, è l'attivazione dell'adiponectina, ormone insulino-sensibilizzante utile per contrastare le complicanze della sindrome metabolica(91).

Oltre che per le alterazioni neuro-endocrine, la pressione dell'obeso si alza anche a causa della compressione meccanica del rene data dal WAT retroperitoneale ipertrofico. L'aumentato della pressione intra-addominale determina la compressione delle vene renali, degli ureteri, dei vasi linfatici e del parenchima

renale con un aumento della pressione arteriosa di 35-40 mmHg(92). La Figura 15 schematizza quanto detto.

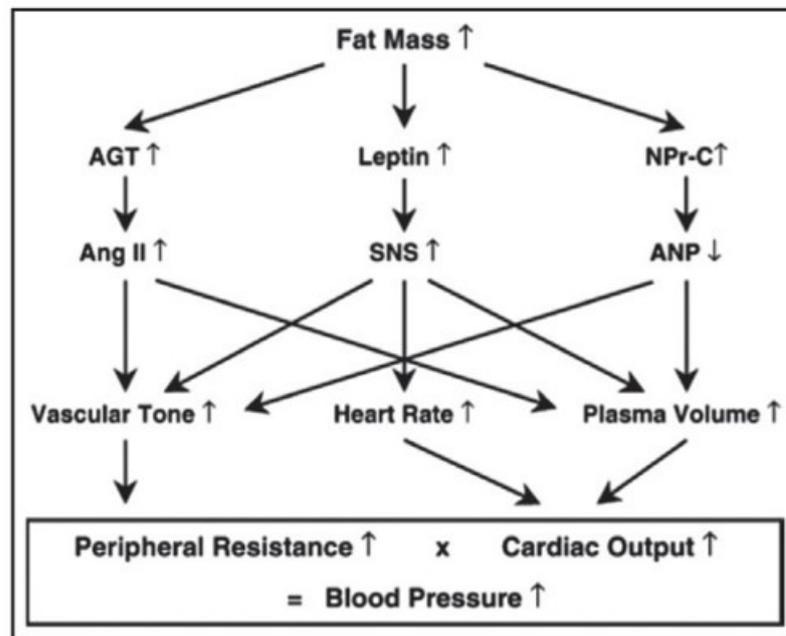


Figura 155: Meccanismi coinvolti nella patogenesi dell'ipertensione arteriosa nel paziente obeso. Immagine tratta da Chrysant et al.(87).

Nella patogenesi dell'HTN partecipano anche alterazioni del sistema immunitario. Nei soggetti ipertesi è stata osservata un'inflammatione del rene, organo chiave nel controllo a lungo termine della pressione sanguigna mediante la regolazione dei fluidi corporei e dell'omeostasi salina. Studi condotti su modelli murini ipertesi hanno evidenziato un aumento dell'infiltrato macrofagico e di linfociti T nei tessuti renali(93). Le cellule infiammatorie sono attratte nel rene attraverso diverse chemochine (tra cui MCP-2) e una volta in sede iniziano a secernere citochine come TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  che, mediante la via di NF $\kappa$ B, inducono stress ossidativo con alterazione della funzione renale da parte dei ROS(94). Un ruolo protettivo sembrerebbero invece avere i linfociti T regolatori, che tuttavia sono ridotti nella corteccia renale dei soggetti affetti da HTN. Un loro trasferimento va a diminuire la concentrazione di citochine pro-infiammatorie renali e quindi la pressione arteriosa(95). Meccanismi infiammatori e immunologici simili a quelli renali si possono osservare anche a livello cerebrale e vascolare. L'ipotalamo partecipa alla regolazione della pressione arteriosa mediante la secrezione di ormoni che agiscono sull'omeostasi idro-salina in risposta a stimoli provenienti dai

centri della sete. È in grado anche di regolare il tono vascolare e la funzione renale modulando l'equilibrio esistente tra i nervi dei sistemi simpatico e parasimpatico(96). Infiltrati infiammatori e aumento di citochine si trovano anche nella parete vascolare degli ipertesi. Numerose chemochine richiamano i macrofagi che secernono TNF $\alpha$  e IL-6 con attivazione della via di NFkB nell'endotelio vascolare e comparsa di stress ossidativo(97).

Si può concludere che l'obesity-related hypertension è una patologia multifattoriale nella cui patogenesi partecipano alterazioni della leptina, del sistema nervoso simpatico, dell'insulina, del sistema renina-angiotensina-aldosterone, dei peptidi natriuretici, dell'infiammazione, del sistema immunitario e la compressione meccanica del rene da parte del WAT retroperitoneale. Il calo ponderale aumenta le concentrazioni ematiche dei peptidi natriuretici e dell'adiponectina, e riduce quelle delle citochine e degli ormoni ipertensiogeni con un importante calo dei valori pressori sistemici.

## **1.5.2 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE MACROVASCOLARI**

L'aterosclerosi in passato era classificata come una patologia delle arterie da accumulo lipidico. Oggi è considerata una condizione di infiammazione subacuta della parete vascolare caratterizzata da un infiltrato di macrofagi e linfociti. Può essere vista come una complicanza dell'obesità in quanto i suoi fattori di rischio principali sono una genetica predisponente, l'iperlipemia, l'ipertensione, il diabete mellito, il fumo di sigaretta e l'infiammazione sistemica (in ultima analisi, le componenti della sindrome metabolica). Costituisce la base anatomopatologica delle malattie coronariche, cerebrovascolari e del sistema vascolare periferico. Nel mondo occidentale, è al primo posto fra le cause di morbidità e mortalità, rendendo conto di circa la metà dei decessi (98).

### **1.5.2.1 RUOLO DEI LIPIDI NELL'ATEROSCLEROSI E NELL'OBESITÀ**

Obesità e aterosclerosi condividono molti meccanismi fisiopatologici e in passato erano considerate malattie da accumulo lipidico. Si pensava che un eccessivo deposito di trigliceridi causasse l'obesità, mentre quello di colesterolo esterificato la placca ateromatosa. Le principali lipoproteine coinvolte nello sviluppo dell'aterosclerosi sono le LDL, che passano dal sangue all'intima del vaso dove vengono ossidate. Una volta ossidate, le LDL inducono l'attivazione delle cellule endoteliali e delle cellule muscolari lisce, la secrezione di mediatori infiammatori e l'espressione di molecole endoteliali di adesione. Il processo culmina con il richiamo e l'accumulo di leucociti nello spazio subendoteliale. Il richiamo di cellule infiammatorie aumenta l'ossidazione delle LDL dando vita a un circolo vizioso. I macrofagi cominciano a fagocitare le LDL ossidate mediante recettori scavenger e si trasformano in cellule schiumose che possono promuovere il danno vascolare mediante la secrezione di citochine oppure andare in apoptosi promuovendo l'ulteriore evoluzione della placca ateromatosa. Alcuni frammenti di LDL ossidate presentati dai macrofagi vengono riconosciuti come non-self e possono contribuire al richiamo e all'attivazione dei linfociti nella placca in formazione. Questo processo può essere paragonato a quanto avviene nell'obesità dove l'aumento di FFA (paragonati ai PAMPs), mediante il legame dei recettori

TLR4 espressi da adipociti e macrofagi del WAT, induce il rilascio di citochine che avviano la risposta infiammatoria loco-regionale e sistemica(98).

### **1.5.2.2 RECLUTAMENTO DELLE CELLULE INFIAMMATORIE NELL'ATEROSCLEROSI E NELL'OBESITÀ**

Sia nell'ateroma in formazione, sia nel WAT ipertrofico, i monociti vengono reclutati mediante chemochine come MCP-1. I monociti infiltranti la placca sono definiti "monociti infiammatori" e presentano un immunofenotipo  $CD14^{hi}CD16^{-}$ , mentre i "monociti residenti" sono meno bravi nell'invadere, ma più adatti alla deposizione di matrice extracellulare, e immunofenotipicamente sono  $CD14^{+}CD16^{+}$ . I monociti infiammatori aumentano di molto nei topi ipercolesterolemici favorendo l'aterosclerosi(99). Analogamente nell'obesità si assiste ad un incremento dei macrofagi infiltranti il WAT e un loro differenziamento verso il fenotipo infiammatorio M1 a discapito degli M2 tipici dei soggetti magri.

### **1.5.2.3 INFILTRATI LINFOCITARI E MACROFAGICI NELL'ATEROSCLEROSI E NELL'OBESITÀ**

Nella placca aterosclerotica sono stati osservati anche linfociti T helper che modulano la risposta immunitaria. Probabilmente essi entrano in contatto con antigeni specifici dell'aterosclerosi (LDL ossidate e Heat Shock Protein 60) presentati in MHC-2 dalle cellule dendritiche nei linfonodi locali, si attivano e migrano nella placca seguendo i gradienti di chemochine. Una volta raggiunta la destinazione, i linfociti Th interagiscono con i macrofagi e si polarizzano in Th1 o Th2 influenzando l'evoluzione della placca. Nelle placche ateromatose si nota una preponderanza dei Th1 sui Th2, con aumento della secrezione di  $IFN\gamma$ , una citochina caratteristica della risposta Th1. Essa induce l'attivazione dei macrofagi M1 con conseguente secrezione di proteasi e  $TNF\alpha$ . Inibisce inoltre la proliferazione delle cellule endoteliali, delle cellule muscolari lisce e la deposizione di collagene, promuovendo l'evoluzione della placca verso una condizione di instabilità, con alto rischio di rottura e complicanze trombotiche(100). Se invece i linfociti preponderanti sono i Th2, le citochine secrete sono IL-4 e IL-13 che attenuano il burst respiratorio dei macrofagi, li

polarizzano in M2 e creano un ambiente che favorisce la maturazione della placca e la stabilizza riducendo il rischio di complicanze(101). La Figura 16 riassume graficamente il processo appena descritto.

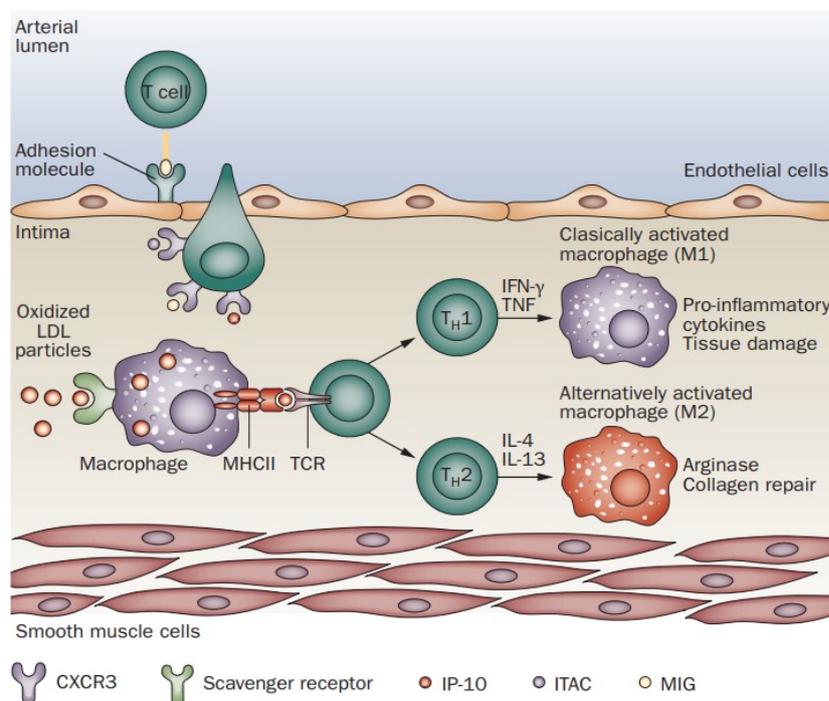


Figura 166: Ruolo dei linfociti nella placca aterosclerotica. La polarizzazione in senso Th1 attiva i macrofagi in senso M1 con secrezione di citochine pro-infiammatorie che contribuiscono alla progressione della placca aterosclerotica, mentre la polarizzazione in senso Th2 attiva i macrofagi in senso M2 con sintesi di collagene e stabilizzazione della placca aterosclerotica. Immagine tratta da Rocha et al.(98).

Anche nell'obesità si sono osservati linfociti Th1 nel contesto del WAT ipertrofico e la secrezione di IFN $\gamma$  contribuisce a polarizzare i macrofagi in senso M1 con aumento della secrezione di TNF- $\alpha$  e IL-6.

#### 1.5.2.4 APOPTOSI E NECROSI DELLE CELLULE RESIDENTI NELL'ATEROSCLEROSI E NELL'OBESITÀ

Altra caratteristica in comune tra placca aterosclerotica e obesità è la presenza di cellule residenti necrotiche e apoptotiche. L'apoptosi delle cellule muscolari lisce dell'ateroma può favorire l'assottigliamento del cappuccio fibroso con aumento del rischio di rottura e trombosi della placca. Anche i macrofagi carichi di LDL ossidate presenti nel core lipidico possono andare incontro a necrosi alimentando il processo flogistico in atto(102). Nell'obesità si può trovare un aumento del numero di adipociti ipertrofici necrotici circondati da rosette di macrofagi,

suggerendo come la necrosi adipocitaria contribuisca al reclutamento di monociti e al mantenimento del quadro infiammatorio del WAT.

#### **1.5.2.5 RUOLO DELL'INFIAMMAZIONE E DELL'IMMUNITÀ NELLA PROGRESSIONE DELLA MALATTIA ATEROSCLEROTICA E DELL'OBESITÀ**

L'infiammazione caratterizza tutti gli stadi dell'evoluzione dell'aterosclerosi e sembra contribuire anche allo sviluppo delle sue principali complicanze come la stenosi arteriosa e la rottura della placca con conseguente trombosi. La rottura della placca aterosclerotica dipende da un equilibrio dinamico tra stabilità del cappuccio fibroso e sua degradazione da parte di enzimi chiamati proteasi. Entrambi i processi sono influenzati dall'infiammazione con  $IFN\gamma$  che induce l'espressione di CD40L (il ligando di CD40) che a sua volta promuove l'espressione di proteasi che degradano il collagene e indeboliscono il cappuccio fibroso(103). Allo stesso tempo vengono inibite le cellule muscolari lisce che fisiologicamente secernono collagene e altre proteine che stabilizzano la placca(104). L'interazione tra CD40L e CD40 (il suo recettore) promuove anche l'espressione del Fattore Tissutale con attivazione della cascata della coagulazione e formazione del trombo piastrinico (vedi Figura 17). Come la trombosi è la principale complicanza dell'aterosclerosi, così lo sviluppo di insulino-resistenza è la principale complicanza dell'obesità e viene mediata dall'azione sistemica e organo-specifica di  $TNF\alpha$ , IL-6, leptina ed altre adipochine secrete da macrofagi M1 e adipociti ipertrofici del WAT.

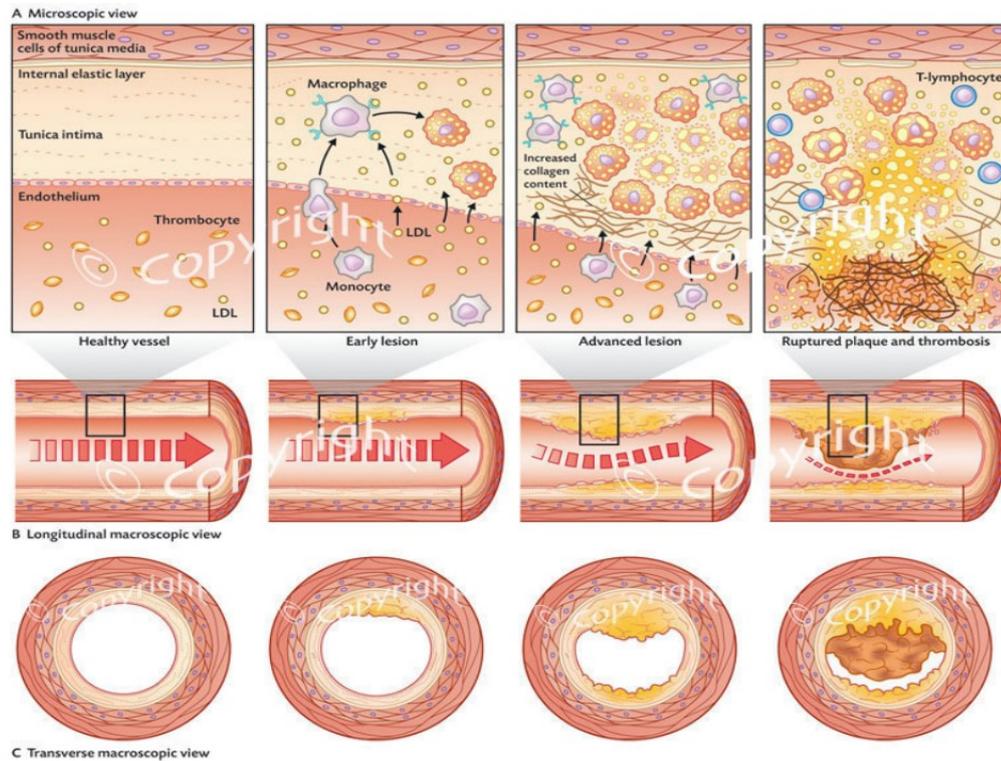


Figura 177: Sviluppo e progressione della placca aterosclerotica con ulcerazione e trombosi secondaria.

### 1.5.2.6 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E INSULINO-RESISTENZA COME PRECURSORI DELL'ATEROSCLEROSI

Lo sviluppo di insulino-resistenza è ciò che collega obesità e aterosclerosi, anche se numerose adipochine secrete dal WAT possono portare ad altre complicanze tipiche dell'obesità come la disfunzione endoteliale, la disfunzione vasomotoria, gli stati di procoagulabilità ematica, le dislipidemie e la low-grade-inflammation, che costituiscono il motore stesso del processo aterosclerotico(105). È per via della relazione tra obesità, infiammazione e aterosclerosi che nella pratica clinica viene dosata la PCR ad alta sensibilità (hsPCR), una pentrossina prodotta dal fegato in risposta all'aumento di IL-6, per predire il rischio di aterosclerosi, infarto miocardico acuto, stroke e altre arteriopatie periferiche dell'obeso. Altri biomarcatori importanti nell'obeso per predire il rischio cardiovascolare sono TNF $\alpha$ , IL-6, leptina e PAI-1 (Inibitore dell'Attivazione del Plasminogeno tissutale-1), una proteina che conferisce un aumento del rischio di coagulopatia).

In conclusione, si è visto come l'obesità sia una causa di aterosclerosi polidistrettuale, e le sue complicanze cardio-cerebro-vascolari sono riassunte nella Figura 18 tratta dal Netter(106).

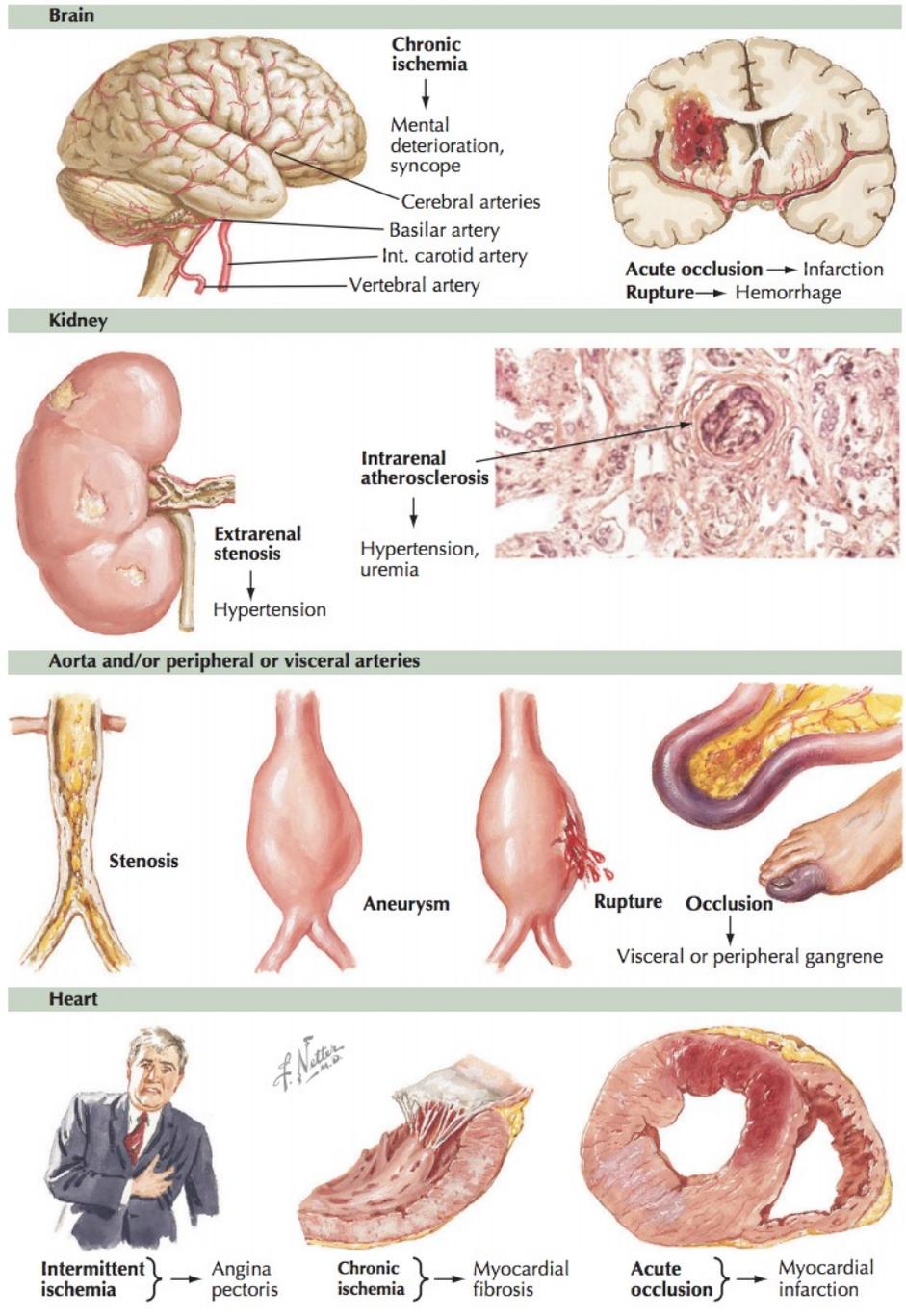


Figura 188: Complicanze trombotiche ed emorragiche cerebrali, renali, aortiche, viscerali, periferiche e cardiache dell'aterosclerosi. Immagine tratta dal Netter (107).

### **1.5.3 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE MICROVASCOLARI**

L'obesità presenta complicanze microvascolari che implicano modificazioni strutturali e funzionali del microcircolo. L'esposizione cronica ad un alto carico lipidico ematico determina una risposta infiammatoria che danneggia il microcircolo ancora prima dello sviluppo dell'obesità(108). In seguito allo sviluppo dell'obesità, il livello di disfunzione del microcircolo è correlato con la quantità di WAT viscerale.

Le microangiopatie dell'obeso sono un gruppo di patologie sistemiche associate primitivamente all'obesità che coinvolgono diversi organi e apparati. Contribuiscono ad alterare la perfusione degli organi bersaglio con attivazione delle risposte compensatorie neuro-endocrine e immunologiche che rendono conto della comparsa di intolleranza all'esercizio fisico e predispongono allo sviluppo di Chronic Kidney Disease (CKD), demenza microvascolare, angina coronarica microvascolare, scompenso cardiaco a frazione di eiezione preservata (HFpEF), broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) e ipertensione polmonare(109). Costituiscono un gruppo di patologie indipendenti dal diabete mellito e dall'ipertensione arteriosa. Ne deriva che nel paziente obeso si può avere simultaneamente la presenza di microangiopatie diabetiche, microangiopatie ipertensive e microangiopatie dell'obeso propriamente dette.

#### **1.5.3.1 FISIOPATOLOGIA DELLE MICROANGIOPATIE DELL'OBESO**

La fisiopatologia delle microangiopatie dell'obeso dipende dalla ridotta perfusione degli organi irrorati dal microcircolo malato e dalla specifica funzione svolta in condizioni fisiologiche da suddetti organi.

La funzione primaria del microcircolo del muscolo scheletrico, del cuore e dell'encefalo è quella di fornire ossigeno e nutrienti ai tessuti irrorati, e di rimuovere l'anidride carbonica e i prodotti di scarto, garantendo il mantenimento dell'omeostasi. Le microangiopatie muscolari, cardiache e cerebrali esitano in una riduzione della perfusione tissutale con conseguente sviluppo di ipossia e low-grade inflammation. Queste modificazioni si manifestano clinicamente con

intolleranza allo sforzo muscolare, angina coronarica microvascolare e patologie cerebro-microvascolari.

Nel WAT il microcircolo consente gli scambi di lipidi tra circolo ematico e adipociti, con anabolismo lipogenetico in condizioni di abbondanza energetica e catabolismo lipolitico nei periodi di starvation. La microangiopatia adiposa causa alterazioni nella perfusione del WAT con modificazioni della sua funzione di storage, accumulo di FFA nel sangue e conseguente lipotossicità sistemica.

Nel polmone il microcircolo consente gli scambi gassosi, mentre nel rene la clearance di prodotti di scarto come la creatinina e l'urea, ma anche delle adipochine secrete dal WAT. La microangiopatia polmonare si caratterizza per la comparsa di ipossia e ipercapnia con insufficienza respiratoria mista, mentre la microangiopatia renale vede l'accumulo di tossine uremiche e adipochine che contribuiscono a mantenere i livelli di low-grade inflammation sistemica(109).

Nei paragrafi a seguire verranno prese in considerazione le principali microangiopatie dell'obeso che, alterando la perfusione tissutale dei vari distretti corporei, sono dei cofattori nello sviluppo di altre patologie e insufficienze d'organo riassunte nella Figura 19(109).

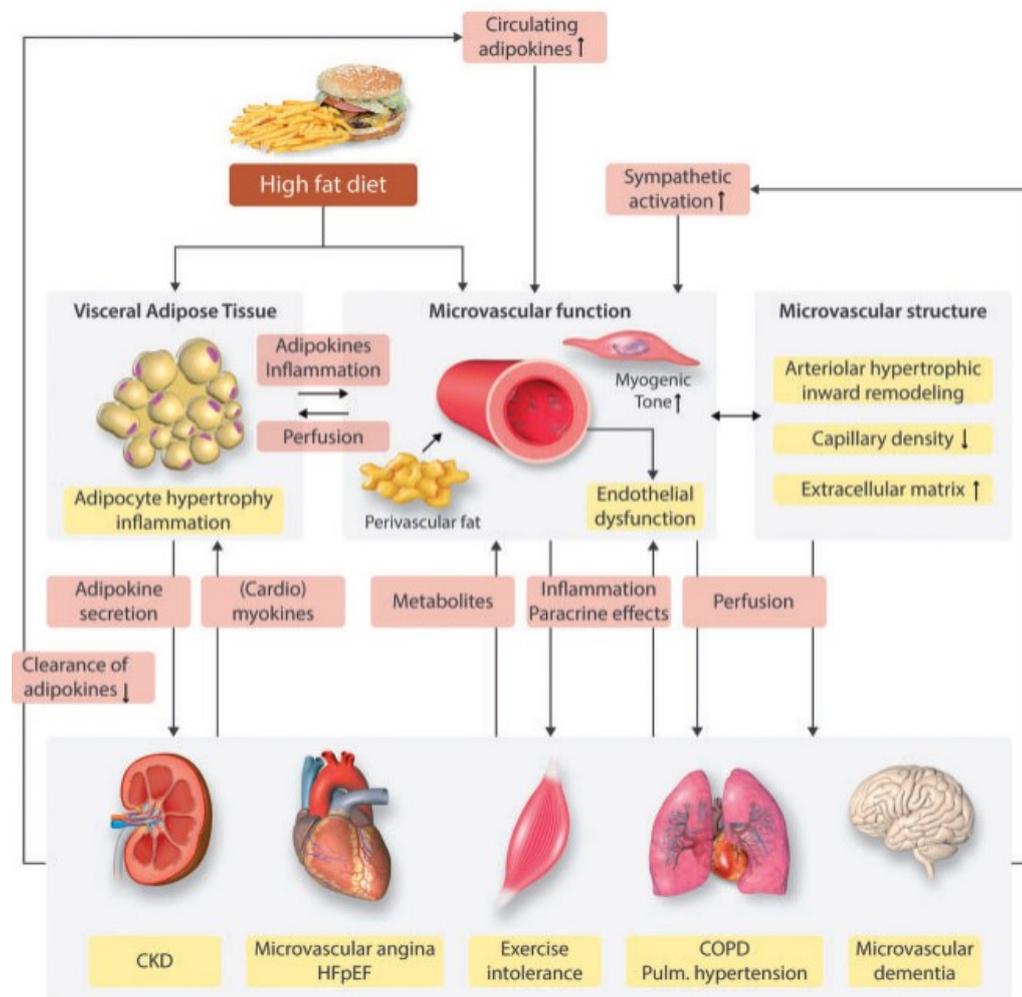


Figura 199: Rappresentazione grafica delle relazioni tra dieta ipercalorica, obesità, disfunzione adipocitaria, disfunzione microvascolare, infiammazione sistemica e microangiopatie del soggetto obeso. Immagine tratta da Sorop et al. (109).

### 1.5.3.2 MICROANGIOPATIA ADIPOSA DEL PAZIENTE OBESO

La microangiopatia adiposa colpisce il tessuto adiposo ipertrofico e infiammato dell'obesità, di cui è un marker caratteristico. Il tessuto adiposo può essere distinto in WAT (con funzione di deposito metabolico) e BAT (con funzione termogenica). Il tessuto adiposo epicardico e perivascolare sono più simili al BAT che al WAT. Sia il WAT che il BAT contengono un fitto microcircolo, anche se ogni tre capillari del BAT se ne riscontra uno nel WAT, pertanto il BAT presenta una maggiore irrorazione. Il microcircolo del WAT serve a scambiare lipidi con gli adipociti, mentre quello del BAT a consegnare substrati energetici agli adipociti termogenici e a dissipare il calore.

Nell'obesità sono compromessi sia i microcircoli del WAT sia quelli del BAT. In particolare, nel microcircolo del WAT:

- in risposta all'abbondanza lipidica viene aumentata l'espressione di P-selectina da parte delle cellule endoteliali venulari, formando un punto di ancoraggio per i monociti che infiltrano il WAT e avviano una risposta infiammatoria locale stimolata direttamente dai lipidi in eccesso mediante il legame con TLR4. Il successivo rilascio di citochine pro-infiammatorie e ROS va ad alimentare la progressione della microangiopatia stessa(110);
- le cellule endoteliali vedono una riduzione dell'espressione di NOS con aumento dei fattori vasocostrittori e conseguente vasocostrizione arteriolare. Questo fatto, associato a un aumento delle dimensioni degli adipociti e alla riduzione del numero dei capillari, contribuisce alla genesi dell'ipossia del WAT con aumento della necrosi adipocitaria;
- l'ipossia del WAT determina anche modificazioni funzionali negli adipociti. Si possono osservare una riduzione della secrezione di adiponectina, e un aumento di quella della leptina e delle citochine pro-infiammatorie tipiche dell'adiposità cronica (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8).

Similmente al WAT, anche il BAT dell'obeso è ipertrofico, tuttavia la rarefazione capillare e l'ipossia conseguente inducono il differenziamento degli adipociti del BAT in adipociti del WAT. La rarefazione del microcircolo sembra essere sufficiente per attivare questo processo(111).

In conclusione, l'ipossia e la flogosi del WAT sono due fattori centrali nella microangiopatia adiposa e contribuiscono alla secrezione di sostanze vasoattive e adipochine infiammatorie che sono implicate nella patogenesi di tutte le altre microangiopatie dell'obeso.

### **1.5.3.3 MICROANGIOPATIA CORONARICA DEL PAZIENTE OBESO**

Il microcircolo coronarico gioca un ruolo fondamentale nell'accoppiamento della perfusione miocardica con il metabolismo cardiaco. Diversi studi hanno mostrato come nella microangiopatia coronarica dell'obeso tale accoppiamento è alterato. Si sono osservate alterazioni nella velocità del flusso coronarico misurate mediante ecografia durante i test da sforzo con dobutamina (112). Altri studi

condotti mediante PET mostrano che il fisiologico aumento della perfusione miocardica in risposta alla diminuzione della temperatura corporea viene alterato. Questi fenomeni vanno messi in relazione con la riduzione della riserva coronarica causata dalla microangiopatia dell'obeso.

Nei pazienti affetti da obesità e ipercolesterolemia, oltre alla riduzione della riserva coronarica, si osserva anche un aumento delle resistenze arteriolari. Tali anomalie sono dovute all'aumento del tono vascolare, al rimodellamento della tonaca intima e alla rarefazione capillare (113). Le alterazioni nel controllo del tono del microcircolo coronarico sono dovute a diversi fattori:

- riduzione dei vasodilatatori di origine endoteliale: nel soggetto affetto da microangiopatia coronarica si riscontra una diminuzione della secrezione di NO da parte dell'endotelio e un aumento del catabolismo delle bradichinine dato dall'aumento dell'attività dell'ACE (Angiotensin-Converting-Enzyme) tissutale(114). Diversi studi hanno osservato come l'attività dell'eNOS (Ossido Nitrico Sintasi endoteliale), l'enzima che sintetizza il vasodilatatore NO, è alterata dalle adipochine secrete dal WAT perivascolare ipertrofico, e che la disfunzione del microcircolo coronarico correla con l'aumento dell'infiammazione. Ciò suggerisce che le citochine pro-infiammatorie derivate dal WAT dell'obeso sono importanti nel determinare la disfunzione del microcircolo coronarico (115);
- aumento dei vasocostrittori neuro-ormonali e di origine endoteliale: nel soggetto affetto da microangiopatia coronarica si osserva un aumento dell'azione sistemica dell'ormone angiotensina-2 e di altri vasocostrittori di origine endoteliale, quali l'endotelina, i prostanoidei e le specie reattive dell'ossigeno.

Oltre alle modificazioni funzionali, il microcircolo coronarico va anche incontro ad alterazioni strutturali. Analisi istologiche su campioni di ventricolo sinistro, ottenuti attraverso biopsie nel contesto di interventi di bypass coronarico, hanno mostrato una significativa riduzione nella densità capillare nei soggetti obesi (116). Sia il rimodellamento arteriolare ipertrofico, sia la rarefazione capillare, contribuiscono probabilmente a determinare la riduzione della riserva coronarica, ovvero della differenza tra perfusione coronarica massimale e a riposo (117).

L'alterazione dei fattori rilasciati dall'endotelio vascolare non solo impatta sulla funzionalità del microcircolo, ma anche su quella dei cardiomiociti, agendo in modo paracrino. La perdita di NO, l'aumento dello stress ossidativo e delle citochine pro-infiammatorie, giocano un ruolo chiave nello sviluppo della disfunzione diastolica del ventricolo sinistro: alterano la capacità di rilassamento dei cardiomiociti e aumentano la sintesi di collagene secreto nella matrice extracellulare (118).

In conclusione, l'obesità gioca un ruolo fondamentale nel causare la microangiopatia coronarica, che è caratterizzata da alterazioni morfo-funzionali del microcircolo cardiaco. La conseguente riduzione della perfusione miocardica contribuisce alla disfunzione dei cardiomiociti, all'aumento della sintesi di collagene e alla fisiopatologia dell'angina microvascolare e dello scompenso cardiaco a frazione di eiezione preservata (HFpEF) che caratterizzano il paziente obeso.

#### **1.5.3.4 MICROANGIOPATIA POLMONARE DEL PAZIENTE OBESO**

I cambiamenti morfo-funzionali del microcircolo polmonare causati dall'obesità sono meno studiati rispetto a quelli di altri distretti corporei. La comparazione degli effetti dell'obesità sul microcircolo sistemico e polmonare è interessante, in quanto i vasi polmonari ricevono la stessa gittata cardiaca di quelli sistemici e sono esposti agli stessi fattori circolanti (glucosio, colesterolo, adipochine e citochine pro-infiammatorie) (109).

L'obesità è associata a molteplici patologie polmonari, tra cui la sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS), la sindrome da obesità-ipoventilazione, la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) con prevalenza del fenotipo bronchitico, l'asma bronchiale e l'embolia polmonare(119). Molte di queste patologie hanno una componente infiammatoria, favorita dalla low-grade inflammation e dalla secrezione di citochine pro-infiammatorie da parte del WAT ipertrofico e infiammato. Mentre l'adiponectina protegge dall'infiammazione del polmone e delle vie aeree, la leptina (caratteristicamente aumentata nell'obeso) esercita un'azione pro-infiammatoria: i suoi recettori sono espressi da tutte le cellule infiammatorie polmonari e, in seguito al suo legame, vengono secrete

citochine pro-infiammatorie e ROS (119). Tuttavia, il modo in cui le modificazioni del profilo citochinico agiscono sul microcircolo polmonare resta da stabilire ed è oggetto di studio.

I vasi del circolo polmonare possono andare incontro sia a macroangiopatie (con sviluppo di aterosclerosi dell'arteria polmonare), sia a microangiopatie. Alcuni studi autoptici hanno rilevato un aumento dello spessore medio delle arteriole e delle venule polmonari con aumento della componente muscolare arteriolare. Tale reperto sembra essere correlato con la diminuzione dei livelli circolanti di adiponectina(120). I cambiamenti strutturali del microcircolo polmonare osservati nell'obesità ricordano quelli trovati nell'ipertensione polmonare post-capillare. Infatti, la prevalenza di ipertensione polmonare è aumentata nei soggetti obesi ed è associata non solo con la sindrome delle apnee ostruttive del sonno e l'ipossia, ma anche con la disfunzione diastolica del ventricolo sinistro e l'aumento della pressione atriale sinistra (121).

Da un punto di vista funzionale. l'equilibrio tra vasocostrittori e vasodilatatori, alcuni studi sperimentali condotti su modelli animali mostrano come gli effetti dell'obesità e della dieta iperlipidica sulla funzione del microcircolo polmonare sembrano dare risultati paradossali:

- la risposta vasodilatatoria mediata dalla pathway di NO è ben preservata nei modelli animali obesi, contrariamente a quanto ci si aspetterebbe (122,123);
- la risposta dell'obeso agli ormoni vasocostrittori nel microcircolo polmonare è minore rispetto a quella dei controlli sani, mentre nel macrocircolo polmonare le due risposte sono equiparabili. Infatti, nei suini obesi il blocco dei recettori dell'endotelina (potente ormone vasocostrittore) non induce l'attesa vasodilatazione del microcircolo polmonare, mentre lo fa con un importante calo delle resistenze nei suini magri. Questa differenza nella risposta ai farmaci vasodilatatori, esistente tra suini obesi e suini magri, è marcata dal fatto che la perdita dell'effetto vasocostrittore dell'endotelina si accompagna a una lieve riduzione delle sue concentrazioni plasmatiche: il suino obeso secerne meno endotelina rispetto a quello magro.

I dati raccolti, apparentemente paradossali, potrebbero essere così interpretati: nel circolo polmonare dell'obeso la riduzione dei vasocostrittori potrebbe

rappresentare un precoce meccanismo di compenso all'aumento delle resistenze dovuto ad altri fattori. Il calo della secrezione di vasocostrittori cerca di mantenere le resistenze vascolari polmonari quanto più possibile basse, per limitare l'aumento del postcarico del ventricolo destro e il rischio di sviluppare uno scompenso cardiaco (109).

In ogni modo, data l'evidente correlazione tra obesità e sviluppo di ipertensione polmonare, altri studi devono essere condotti per individuare i meccanismi responsabili del fenomeno.

### **1.5.3.5 MICROANGIOPATIA RENALE DEL PAZIENTE OBESO**

L'obesità è associata ad un aumento del rischio di insufficienza renale cronica (CKD). In uno studio caso-controllo si è vista anche un'associazione con la nefropatia diabetica, la nefroangiosclerosi e un particolare tipo di glomerulopatia dell'obeso suggerendo la presenza di un danno obesità-mediato del microcircolo renale(124). Alcuni studi clinici hanno mostrato che nel paziente obeso è presente una vasodilatazione dell'arteriola afferente con aumento del flusso ematico renale (Renal Blood Flow-RBF) e conseguente iperfiltrazione (aumento della GFR)(125). L'aumento dell'RBF è dovuto a un aumento della volemia e della perfusione della corticale renale che avvengono nei primi stadi dell'obesità(126).

L'obesità è legata a ipertrofia e infiammazione del WAT peri-renale che induce uno stato di low-grade inflammation e disfunzione dell'endotelio nefro-vascolare. In questo processo è coinvolta l'alterazione della secrezione del vasodilatatore NO. Nei suini, sebbene nelle prime fasi l'espressione dell'enzima eNOS aumenti, la prolungata esposizione a una dieta iperlipidica riduce l'espressione di eNOS e stimola l'attivazione della xantina-ossidasi con alterazione della sintesi di NO(127). A questo fattore si somma l'aumento dello stress ossidativo: la capacità antiossidante dell'obeso viene ridotta dalla diminuzione dell'attività della superossido dismutasi e dall'aumento dell'enzima NAD(P)H-ossidasi. Il conseguente aumento delle specie reattive dell'ossigeno induce l'espressione della pre-pro-ET-1 renale e dei recettori dell'endotelina ET<sub>A</sub> con conseguente vasocostrizione del microcircolo renale(128). Anche l'aumento delle citochine pro-infiammatorie secrete dal WAT peri-renale ha un ruolo fondamentale. Il

TNF $\alpha$  è importante nell'alterazione della funzione endoteliale in senso vasocostrittorio.

Oltre ad alterazioni funzionali, il microcircolo renale va incontro anche a modificazioni strutturali. L'obesità si associa a un aumento dell'angiogenesi renale con aumentata espressione di VEGF e dei suoi recettori Flk-1 e Angpt2(129). Inoltre, l'espressione del fattore anti-angiogenico TSP-1 viene diminuita con l'aumento dello stress ossidativo. L'aumento dell'angiogenesi si traduce in aumento della densità arteriolare e capillare nella corticale esterna degli obesi. Tuttavia, i vasi neoformati sono tortuosi, leaky e immaturi, determinando la fuoriuscita di un essudato eritrocitario nei tessuti circostanti. Al contrario, la densità glomerulare è diminuita e i glomeruli presenti risultano ipertrofici con iperplasia delle cellule mesangiali e edema glomerulare, come osservato nei modelli porcini(130). Complessivamente questi dati evidenziano come il microcircolo neoformato aumenta la filtrazione glomerulare, ma in modo disfunzionale e in un tessuto morfologicamente danneggiato. La tonaca media dei vasi del microcircolo appare ipertrofica e si osserva un aumento della fibrosi tubulo-interstiziale e peri-vascolare. Questi fenomeni sono mediati dall'aumento della secrezione di TNF $\alpha$  da parte dei macrofagi M1 e di TGF $\beta$  da parte dei macrofagi M2 infiltranti il tessuto renale dell'obeso; pertanto, l'infiammazione gioca un ruolo fondamentale nella patogenesi della microangiopatia renale (131). Il rimodellamento vascolare renale è favorito anche dall'aumento dell'espressione di metalloproteasi nella matrice extracellulare (MEC) con la sua successiva degradazione. Sempre a livello della MEC viene aumentata l'espressione della transglutaminasi tissutale con formazione di cross-links tra le proteine e rimodellamento vascolare, specialmente in condizioni di aumentata vasocostrizione(109).

In conclusione, l'aumento del WAT infiammato intorno e dentro al rene dei soggetti obesi agisce come una sorgente di citochine pro-infiammatorie causando stress ossidativo, disfunzione endoteliale e rimodellamento microvascolare. Sebbene il processo sia inizialmente reversibile, la cronica esposizione ai fattori di rischio renali determina l'irreversibilità dell'alterazione del microcircolo renale. Il diabete mellito e l'ipertensione arteriosa sono ancora considerate le principali cause di CKD, tuttavia l'obesità aumenta il rischio di CKD ed End-Stage Kidney

Disease (ESKD) indipendentemente dalla presenza di altri fattori di rischio cardiovascolari o nefropatie(132). Inoltre, dal momento che il rene è importante per la clearance delle adipochine e delle tossine uremiche, la disfunzione renale dell'obeso può contribuire allo sviluppo di microangiopatie in altri distretti corporei e quindi all'aggravamento delle patologie cardiovascolari causate dall'obesità(133).

#### **1.5.3.6 MICROANGIOPATIA CEREBRALE DEL PAZIENTE OBESO**

L'encefalo è un organo che richiede un continuo rifornimento di sangue, con alterazioni dell'attività elettrica regionale che si accompagnano ad un corrispondente cambiamento nella distribuzione del flusso ematico mediante vasodilatazione metabolica. Tale proprietà del circolo cerebrale prende il nome di accoppiamento neuro-vascolare. L'obesità porta allo sviluppo di un cambiamento nella forma e nella funzione del microcircolo cerebrale con una rottura dell'accoppiamento neuro-vascolare e successivo sviluppo di alterazioni cognitive su base microangiopatica. Inoltre, è importante ricordare come il microcircolo cerebrale è circondato esclusivamente da neuroni e cellule della glia, dal momento che a livello encefalico non si trovano adipociti perivascolari. Di conseguenza gli effetti dell'obesità si manifestano in seguito ad alterazioni metaboliche tra endotelio-citi-neuroni-cellule della glia e sviluppo di altre complicanze dell'obesità con impatto sul microcircolo come il diabete mellito, l'ipertensione arteriosa e l'ipercolesterolemia(134).

Studi preclinici e clinici condotti su pazienti obesi mostrano una riduzione del flusso ematico cerebrale e un'alterazione della vasodilatazione in condizioni di ipercapnia sistemica(135). I meccanismi responsabili sono probabilmente la rarefazione del microcircolo, la diminuzione del contributo di NO nel controllo del tono microvascolare basale, la riduzione del rilascio di prostanoide vasodilatatori e l'effetto diretto degli idrogenioni sui canali ionici del muscolo liscio vascolare(109).L'alterazione della vaso-reattività cerebrale dell'obeso è indipendente dall'insulino-resistenza, ma peggiora in condizioni di ipertensione e iperglicemia. I ratti Zucker obesi mostrano un'alterazione della vasodilatazione indotta da NO nell'arteria cerebrale media e una diminuzione della vasodilatazione indotta da insulina, per via di una maggiore attivazione della via

delle MAPK rispetto a quella di PI3K. Il tutto si associa all'aumento della produzione di superossido e stress ossidativo(136). L'alterazione della vasodilatazione insulino-mediata potrebbe contribuire alla riduzione dell'uptake di glucosio da parte dell'encefalo favorendo la comparsa di alterazioni cognitive.

Oltre alle alterazioni funzionali, l'obesità determina anche alterazioni morfologiche delle arteriole e dei capillari encefalici. Caratteristici della microangiopatia sono la presenza di micro-sanguinamenti cerebrali, la comparsa di lacune e micro-lacune, e l'aumento della predisposizione a neuro-degenerazione che si osserva nei soggetti affetti da obesità centrale e insulino-resistenza. La densità del microcircolo diminuisce e la tonaca muscolare dell'arteria cerebrale media va incontro a ipertrofia con progressivo sviluppo di aterosclerosi nel corso del tempo (137). Tali fenomeni si associano all'aumento dell'attività della metalloproteasi-2 (MMP-2) e della sintesi di collagene, e alla riduzione dell'attività di MMP-13, suggerendo come la deposizione di collagene sia importante per l'aumento della rigidità dei vasi arteriosi. Uno dei primi stimoli al rimodellamento ipertrofico dell'arteria cerebrale media è l'insorgenza di obesity-related hypertension e questa impatta nella patogenesi in modo maggiore rispetto all'iperglicemia o all'ipercolesterolemia.

L'ipertensione arteriosa non sembra essere tuttavia il driver principale nella patogenesi della microangiopatia (138). In uno studio condotto sui macachi Rhesus (138), la rarefazione capillare della corteccia cerebrale avveniva contemporaneamente alla diminuzione di VEGF, all'attivazione di VHL, all'attivazione di HIF-1 $\alpha$  in risposta all'ipossia e a una paradossale attivazione di FOXO3 ed eNOS. Sembra quindi che, mentre le modificazioni macroangiopatiche dell'arteria cerebrale media sono prevalentemente indotte dall'ipertensione, la microangiopatia cerebrale sia da attribuire alla disfunzione metabolica e allo stress ossidativo dell'obesità. La rarefazione del microcircolo potrebbe limitare la riserva cerebro-vascolare e alterare il controllo del flusso ematico (109). I segni precoci della microangiopatia cerebrale dell'obeso possono manifestarsi molto precocemente, come dimostrano alcuni studi condotti su bambini obesi di due anni (139).

In conclusione, gli effetti cumulativi dell'ipertrofia arteriolare, della rarefazione capillare e dell'alterazione della capacità di vasodilatazione presenti nel microcircolo dell'obeso, possono contribuire all'alterazione della perfusione cerebrale e dell'accoppiamento neuro-vascolare con aumentato rischio di demenza microvascolare associata ad obesità.

### **1.5.3.7 MICROANGIOPATIA MUSCOLARE DEL PAZIENTE OBESO**

La microangiopatia muscolare è una complicanza dell'obesità coinvolta nella riduzione della vascolarizzazione del muscolo scheletrico con aumento dell'intolleranza allo sforzo fisico. Sebbene alcuni studi condotti su pazienti obesi mostrino un flusso ematico muscolare ben mantenuto sia a riposo che sotto sforzo, altri studi sottolineano una riduzione del flusso normalizzato per la massa muscolare. Questa riduzione è presente a tutte le età, sia negli arti superiori, che negli arti inferiori. Inoltre, la riduzione del flusso durante l'esercizio fisico viene compensata da un aumento dell'estrazione di ossigeno per soddisfare le richieste metaboliche del muscolo (140).

Nel muscolo scheletrico si ha uno stretto legame tra perfusione e attività metabolica. Tale relazione viene garantita dall'azione del sistema nervoso autonomo, dal rilascio di mediatori endoteliali paracrini e dalle interazioni meccaniche tra muscolo in contrazione e microcircolo:

- il sistema nervoso autonomo garantisce l'iperemia muscolare durante l'esercizio fisico mediante l'attivazione delle fibre vasodilatatorie simpatiche e la vasodilatazione mediata dallo spillover verso le cellule endoteliali dell'acetilcolina rilasciata dai nervi motori nella giunzione neuro-muscolare. L'attività simpatica a riposo del muscolo scheletrico (Muscle Sympathetic Nerve Activity-MSNA) è maggiore nel paziente obeso con sindrome metabolica, ma non aumenta ulteriormente durante l'esercizio fisico: il meccanismo di compenso simpatico è già attivo a riposo (141). Questo fatto suggerisce come la vasodilatazione  $\beta$ -adrenergica durante lo sforzo fisico sia ridotta nell'obeso. Anche la vasodilatazione del microcircolo endotelio-dipendente in risposta all'acetilcolina può essere ridotta nell'obeso. L'acetilcolina, rilasciata dalle fibre parasimpatiche o derivante dalla giunzione

neuro-muscolare, agisce sugli endotelioцитi stimolando la produzione di NO che diffonde alla cellula muscolare liscia della parete vasale con miorilassamento PKG-mediato e conseguente vasodilatazione. Nell'obeso i meccanismi di vasodilatazione NOS-dipendenti e COX-dipendenti in risposta all'acetilcolina sono ridotti, mentre sono aumentati i meccanismi vasodilatatori mediati da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'aumento dell'acqua ossigenata deriverebbe da un aumento dell'attività della super-ossido dismutasi (SOD). Un altro possibile compenso alla riduzione del rilascio di NO è la riduzione della secrezione di endotelina con un minore effetto di vasocostrizione da essa mediato (142);

- il sistema endocrino modula il tono del microcircolo muscolare mediante l'ormone insulina. Nei soggetti sani l'insulina induce una vasodilatazione PI3K-mediata, facilitando la consegna di glucosio e il suo uptake muscolare. In condizioni di insulino-resistenza si assiste invece all'attivazione della via di ERK 1/2 con vasocostrizione. Questo determina un'alterazione nell'uptake di glucosio e una riduzione del flusso ematico al muscolo sia in condizioni di riposo, sia sotto sforzo (143);
- il sistema immunitario innato è parzialmente coinvolto nella riduzione della perfusione del muscolo scheletrico dell'obeso. L'effetto è mediato dalla secrezione di citochine pro-infiammatorie da parte del WAT perivascolare. La low-grade inflammation potrebbe essere correlata a stress ossidativo muscolare legato all'attivazione di NADPH-ossidasi; ciò si osserva nei grandi obesi, ma non nelle obesità di grado inferiore. A supporto di questa affermazione, la somministrazione di un inibitore della NADPH-ossidasi e dell'antiossidante apocynin ha aumentato la perfusione muscolare mediata da acetilcolina nei muscoli dei soggetti obesi ma non nei sani (144).

La diminuzione della capacità di esercizio fisico (VO<sub>2</sub> max) indotta dall'obesità correla fortemente con la densità di capillari nel muscolo scheletrico, indicando come nel microcircolo muscolare non siano presenti solamente alterazioni funzionali, ma anche strutturali. Uno studio condotto su roditori ha suggerito come la rarefazione capillare avvenga in due fasi: la prima sarebbe mediata dall'aumento dello stress ossidativo, la seconda dalla diminuzione del vasodilatatore ossido nitrico (NO) (145).

Riassumendo, l'obesità causa una rarefazione del microcircolo muscolare e la riduzione della perfusione muscolare a riposo. I meccanismi non sono completamente noti, ma potrebbero coinvolgere la secrezione di citochine da parte del WAT perivascolare con successiva modulazione dell'insulino-sensibilità, della funzione dell'endotelio e un aumento della vasocostrizione data dall'aumento dell'attività basale del sistema nervoso simpatico. Anche le modificazioni strutturali del microcircolo potrebbero influenzare la perfusione del muscolo a riposo. L'iperperfusione muscolare sotto sforzo è inizialmente mantenuta, tuttavia con il progredire della malattia viene compromessa anche grazie all'interazione della microangiopatia dell'obeso con l'insorgenza (nello stesso paziente) di microangiopatia diabetica, microangiopatia ipertensiva, dislipidemia e insulino-resistenza (109).

#### 1.5.3.8 CONCLUSIONE SULLE MICROANGIOPATIE DELL'OBESO

L'obesità è una delle principali cause di microangiopatia in molteplici distretti anatomici. La disfunzione del microcircolo è probabilmente iniziata dall'aumento della concentrazione di FFA circolanti e perpetuata dal cambiamento nella secrezione di adipochine e citochine pro-infiammatorie da parte del WAT viscerale e peri-vascolare del soggetto obeso. Questi mediatori contribuiscono anche allo sviluppo di insulino-resistenza sistemica con alterazioni della funzione degli organi colpiti mediante modificazioni della perfusione e dei messaggeri paracrini secreti delle cellule endoteliali. La comparsa di microangiopatia può contribuire a spiegare lo sviluppo di intolleranza all'esercizio fisico e l'aumento della prevalenza di CKD, demenza microvascolare, angina microvascolare, HFpEF e ipertensione polmonare nei soggetti affetti da obesità(109). Le Tabella II e III riassumono le modificazioni morfo-funzionali riscontrabili nei microcircoli dei diversi distretti corporei coinvolti.

	<b>GRASSO PERIVASCOLARE</b>	<b>WAT</b>	<b>BAT</b>	<b>MUSCOLO SCHELETRICO</b>
<b>MODIFICAZIONI STRUTTURALI</b>				
Spessore tonaca media/ Spessore tonaca intima	/	/	/	/
Deposizione di	↑	↑	↑	/

Matrice Extracellulare				
Densità Capillare	/	↓	↓	↓
<b>MODIFICAZIONI FUNZIONALI</b>				
<b>Metabolic Coupling</b>	/	/	/	Invariata a riposo, ↓ sotto sforzo
<b>Funzioni Endoteliali</b>				
Ossido Nitrico	/	↓	/	↓
Prostaciclina	/	/	/	↓
Endotelina	/	/	/	↓
Fattore Iperpolarizzante Derivato dall'Endotelio (EDHF)	/	/	/	↑
<b>Signaling Insulinico</b>				
Sensibilità all'Insulina	/	↓	↓	↓
PI3K-NO	/	↓	↓	↓
Erk 1/2-ET	/	/	/	↑
<b>Citochine Pro-Infiammatorie</b>	↑	↑	↑	↑
<b>ROS</b>	↑	↑	↑	Invariati a riposo e ↑ sotto sforzo
<b>PDE5</b>	/	/	/	↓
<b>Adipochine</b>				
Adiponectina	↓	↓	↓	/
Leptina/Resistina	↑	↑	↑	↑
<b>Sistema Nervoso Simpatico</b>				
Controllo Simpatico	/	/	↓	↑ a riposo e = sotto sforzo
Vasodilatazione β-Adrenergica	/	/	/	↓
Vasocostrizione α-Adrenergica	/	/	/	↑ a riposo e ↓ sotto sforzo
<b>CONSEGUENZE/ MALATTIE</b>	Trasformazione in WAT	Ipertrofia	Trasformazione in WAT	Intolleranza all'Esercizio Fisico

Tabella II: Alterazioni Morfo-Funzionali del microcircolo del grasso perivascolare, del WAT, del BAT e del muscolo scheletrico nel soggetto obeso. Tabella tratta da Sorop et al. (109).

	<b>CORONARIE</b>	<b>ENCEFALO</b>	<b>RENE</b>	<b>POLMONE</b>
<b>MODIFICAZIONI STRUTTURALI</b>				
Spessore tonaca media/ Spessore	↑	↑	↑	↑

tonaca intima				
Deposizione di Matrice Extracellulare	↑	↑	↑	/
Densità Capillare	↓	↓	↓	/
<b>MODIFICAZIONI FUNZIONALI</b>				
<b>Metabolic Coupling</b>	Invariata a riposo, ↓ sotto sforzo	↓	Iperfiltrazione	/
<b>Funzioni endoteliali</b>				
Ossido Nitrico	↓ all'inizio, invariato in seguito	↓	↑ all'inizio, ↓ in seguito	↑ all'inizio, ↓ o invariato in seguito
Prostaciclina	/	↓	/	/
Endotelina	↑	/	↑	↓
Fattore Iperpolarizzante Derivato dall'Endotelio (EDHF)	/	/	/	/
<b>Signaling Insulinico</b>				
Sensibilità all'Insulina	/	↓	/	/
PI3K-NO	/	↓	/	/
Erk 1/2-ET	/	↑	/	/
<b>Citochine Pro-Inflammatorie</b>	↑	/	↑	↑
<b>ROS</b>	↑	↑	↑	/
<b>PDE5</b>	/	/	/	=
<b>Adipochine</b>				
Adiponectina	/	/	/	/
Leptina/Resistina	↑	/	/	/
<b>Sistema Nervoso Simpatico</b>				
Controllo Simpatico	/	/	/	/
Vasodilatazione β-Adrenergica	/	/	/	/
Vasocostrizione α-Adrenergica	/	/	/	/
<b>CONSEGUENZE/ MALATTIE</b>	Disfunzione Diastolica	Demenza Microvascolare	Disfunzione Renale Aumento delle Tossine Uremiche	Inflammaziona Polmonare e Ipertensione Polmonare

Tabella IIIII: Alterazioni Morfo-Funzionali del microcircolo del cuore, dell'encefalo, del rene e del polmone nel soggetto obeso. Tabella tratta da Sorop et al.(109).

#### **1.5.4 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE CARDIACHE**

L'obesità si associa direttamente all'insorgenza di numerosi fattori di rischio cardiovascolari (diabete mellito, dislipidemie, ipertensione arteriosa e disturbi del sonno). È inoltre in grado di contribuire alla patogenesi di numerose patologie cardiovascolari indipendentemente dalla presenza degli altri fattori di rischio. Alla luce di ciò, l'eccesso di adiposità viscerale è considerato un indice indipendente di scarsa prognosi cardiovascolare. La sua riduzione correla con il miglioramento dei livelli di flogosi sistemica e disfunzione endoteliale(146). Nei prossimi paragrafi si vedrà il ruolo dell'obesità e della low grade inflammation nella patogenesi di quattro tra le più comuni cardiopatie del paziente obeso.

##### **1.5.4.1 DEPOSITI ECTOPICI DI WAT PERICARDICO, EPICARDICO E RUOLO NELLA CORONAROPATIA ATEROSCLEROTICA**

L'obesità è caratterizzata da ipertrofia e infiammazione del WAT, low grade inflammation sistemica, alterazione degli ormoni adipocitari e infiltrazione del WAT in diversi organi e apparati secondariamente allo sviluppo di insulino-resistenza. Tra gli organi colpiti dalla deposizione ectopica di WAT spicca il cuore. A livello cardiaco infiltrazioni di WAT si possono osservare a livello pericardico ed epicardico(12).

Il WAT pericardico consiste nella totalità del tessuto adiposo contenuto all'interno del sacco pericardico. Questo deposito è stato associato alla presenza di BMI elevati, fattori di rischio cardiovascolari tradizionali e aumento delle lipoproteine pro-aterogene(147). In uno studio sull'aterosclerosi è stato associato all'aumento del rischio cardiovascolare, alla comparsa di gravi patologie aterosclerotiche e scompenso cardiaco(148).

Il WAT epicardico rappresenta il grasso viscerale compreso tra il foglietto viscerale del pericardio e la parete esterna del miocardio. Questo tessuto adiposo origina dal BAT embrionale e rilascia citochine e chemochine nel microcircolo coronarico che lo perfonde (149). Lo spessore del WAT epicardico è stato correlato con la misura della circonferenza addominale, i valori di pressione arteriosa, i markers di insulino-resistenza e lo sviluppo di dislipidemia, suggerendo come esso sia da considerare altamente insulino-resistente e un ottimo

indice di rischio cardiovascolare(150). È stato anche associato alla severità della sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS) nelle donne in maniera indipendente dal BMI(151).

L'aumento e l'infiammazione del WAT pericardico ed epicardico giocano un importante ruolo nella patogenesi di numerose complicanze cardiovascolari dell'obesità tra cui l'aterosclerosi coronarica. Alcuni studi prospettici hanno messo in luce come la connessione tra obesità e Coronary Artery Disease (CAD) è mediata prevalentemente dagli effetti di ipertensione arteriosa, diabete mellito, ipercolesterolemia e altre comorbidità dell'obesità, tuttavia, dopo aver considerato i suddetti fattori di rischio, permarrrebbe una frazione residua di rischio statisticamente significativa(152). Tale frazione sarebbe attribuibile alla produzione di adipochine, allo stress ossidativo e allo stato pro-trombotico presente nel soggetto obeso. Il WAT pericardico ed epicardico contribuiscono alla patogenesi dell'aterosclerosi proprio creando uno stato locale di low-grade inflammation(153). Uno studio anatomico-patologico condotto su cadaveri umani ha messo in evidenza che, mentre la parte intramiocardica del ramo discendente anteriore della coronaria sinistra era in perfette condizioni, il tratto epicardico della medesima arteria presentava lesioni caratteristiche di una consistente aterosclerosi(154). Similmente, in un modello sperimentale di conigli ipercolesterolemici, il tratto epicardico di coronaria circondato da WAT sviluppava aterosclerosi, mentre il segmento intramiocardico della medesima arteria rimaneva inalterato(155). In conclusione, la produzione locale di citochine e adipochine da parte del WAT epicardico è in grado di modulare la biologia dei vasi arteriosi attraverso molecole segnale riversate paracrinamente nei vasa vasorum(146).

#### **1.5.4.2 CARDIOMIOPATIA NEL PAZIENTE OBESO**

Le cardiomiopatie costituiscono un gruppo eterogeneo di malattie del miocardio associate a disfunzioni meccaniche e/o elettriche che solitamente mostrano ipertrofia miocardica o dilatazione ventricolare e sono dovute a svariate cause, spesso genetiche. Le cardiomiopatie possono essere limitate al cuore oppure far parte di disturbi sistemici, che spesso portano a morte per cause cardiovascolari o alla progressiva invalidità associata a scompenso cardiaco (37).

Numerose evidenze epidemiologiche, cliniche e sperimentali supportano l'esistenza di una particolare cardiomiopatia presente nel soggetto obeso, definita "cardiomiopatia dell'obeso", che si sviluppa indipendentemente dalla presenza di ipertensione, coronaropatie o altre patologie cardiache(156). Tra i fattori coinvolti nella patogenesi della malattia compaiono la disfunzione del WAT peri-epicardico, la presenza sistemica di low grade inflammation, l'insulino-resistenza, la lipotossicità, l'alterazione dell'omeostasi del  $Ca^{2+}$  mitocondriale, lo stress ossidativo, i difetti dell'autofagia e della mitofagia, la fibrosi miocardica, le alterazioni della riserva coronarica, la microangiopatia coronarica e la disfunzione endoteliale (156).

#### **1.5.4.2.1 MODIFICAZIONI STRUTTURALI E FUNZIONALI NELLA CARDIOMIOPATIA DELL'OBESO**

I reperti anatomopatologici tipici della cardiomiopatia dell'obeso sono l'ipertrofia concentrica o eccentrica del ventricolo sinistro, il rimodellamento dell'atrio sinistro con una progressiva dilatazione predisponente allo sviluppo di fibrillazione atriale, l'ipertrofia del ventricolo destro secondaria all'aumento delle pressioni polmonari e la stenosi della valvola aortica secondaria all'aumento del post-carico, al deposito di lipidi sui lembi valvolari con conseguente attivazione della risposta infiammatoria e calcificazione valvolare (156).

Da un punto di vista fisiopatologico si assiste al progressivo sviluppo di disfunzione diastolica del ventricolo sinistro (con possibile evoluzione a HFpEF) e successiva comparsa di disfunzione sistolica (e in questo caso si avrebbe un HFrEF). Lo stesso dicasi per la disfunzione diastolica e sistolica del ventricolo destro incentivata dall'aumento delle resistenze nel circolo polmonare secondario alla disfunzione diastolica del ventricolo sinistro. L'aumento delle pressioni nell'atrio sinistro, sempre secondario alla disfunzione diastolica del ventricolo sinistro, favorisce l'insorgenza delle modificazioni strutturali ed elettriche tipiche della fibrillazione atriale (156).

#### **1.5.4.2.2 RUOLO DELL'INFIAMMAZIONE E DELL'INSULINO-RESISTENZA NELLA PATOGENESI DELLA CARDIOMIOPATIA DELL'OBESO**

L'infiammazione sistemica di basso grado e l'insulino-resistenza svolgono un ruolo centrale nella fisiopatologia della cardiomiopatia dell'obeso. I meccanismi coinvolti sono l'aumento di leptina, la diminuzione di adiponectina, l'aumento di resistina, la diminuzione di NO, l'aumento di citochine pro-infiammatorie (in particolare del TNF $\alpha$ ), lo sviluppo di resistenza all'ormone insulina, l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, la lipotossicità e il rilascio di fattori locali pro-fibrotici (156).

Il processo inizia con il rilascio da parte del WAT viscerale ipertrofico e infiammato di massicce quantità di FFA che, attivando il TLR4 e le risposte infiammatorie sistemiche, contribuiscono all'insorgenza di insulino-resistenza(157). Questa determina l'incapacità del WAT di accumulare altri lipidi, che iniziano a depositarsi nel fegato, nel muscolo scheletrico, nel pancreas e nel cuore. I depositi adiposi pericardici ed epicardici giocano un ruolo fondamentale nello sviluppo delle complicanze cardiache dell'obesità promuovendo la comparsa di complicanze metaboliche e infiammatorie del miocardio(158). Da un punto di vista meccanico l'ipertrofia del WAT peri-epicardico aumenta lo stress meccanico esercitato sui ventricoli, aumentando il lavoro del cuore e promuovendone l'ipertrofia. Inoltre, contribuisce alla dilatazione atriale e alla disfunzione diastolica ventricolare con un'azione compressiva che ostacola il riempimento diastolico ventricolare. Da un punto di vista metabolico, l'infiltrazione miocardica di adipociti provenienti dal WAT epicardico aumenta il consumo di FFA con aumento dell'effetto lipotossico. Infine, il WAT peri-epicardico trasduce l'infiammazione sistemica in infiammazione del miocardio mediante la secrezione di TNF- $\alpha$  e IL-6 che promuovono il disarray miocardico, la comparsa di fibrosi e delle alterazioni funzionali dei cardiomiociti(159). Analizzando nel dettaglio le modificazioni cui vanno incontro i mediatori umorali si ha che:

- adiponectina, ormone cardioprotettivo che riduce lo stress ossidativo, l'infiammazione e il rimodellamento cardiaco, è ridotta in seguito all'ipertrofia del WAT (160);
- FGF-21 cardiaco è aumentato come compenso al danno indotto dall'obesità (161);

- IL-10, citochina anti-infiammatoria, è ridotta e la sua somministrazione protegge dal rimodellamento dell'atrio sinistro e dall'insorgenza di fibrillazione atriale(162);
- TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 e MCP-1 sono aumentate e governano il processo di infiammazione sistemica;
- leptina è aumentata e legando il LEPR dei cardiomiociti induce lo sviluppo di ipertrofia cardiaca (163);
- resistina, una citochina secreta dai macrofagi, è aumentata e induce lo sviluppo di ipertrofia cardiaca, disfunzione sistolica, infiammazione e disfunzione endoteliale (164);
- TGF $\beta$ 1, citochina pro-fibrotica, è risultato aumentato nel ventricolo sinistro di conigli obesi con una deposizione di collagene extracellulare maggiore rispetto a quella dei conigli sani (165).

I mediatori sono rilasciati dagli adipociti ipertrofici e dai macrofagi infiltranti il WAT malato. Anche a livello del WAT epicardico è stata notata una prevalenza di macrofagi M1 pro-infiammatori rispetto agli M2 pro-fibrotici (166). Essi svolgono anche la funzione di fagociti per i detriti cardiomiocitari in seguito ai fenomeni di necrosi. In conclusione, la flogosi sistemica e miocardica di basso grado è tipica della cardiomiopatia dell'obeso, la quale ha ormai assunto la dignità di patologia a sé stante e indipendente da fattori di rischio cardiovascolari diversi dall'obesità (167).

#### **1.5.4.3 SCOMPENSO CARDIACO NEL PAZIENTE OBESO**

L'obesità promuove cambiamenti nella funzione cardiaca, sia mediante effetti diretti sul miocardio e il microcircolo coronarico, sia indirettamente favorendo l'insorgenza degli altri fattori di rischio cardiovascolare (168).

Il WAT ipertrofico e infiammato dell'obeso conduce a modificazioni emodinamiche con l'aumento del precarico (rappresentato dalla volemia e dal volume ventricolare telediastolico) e quindi della gittata cardiaca (169). Allo stesso tempo l'iper-attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone e del sistema nervoso simpatico comporta l'aumento della pressione arteriosa, ovvero del post-carico (170). Questi due fattori, insieme all'accumulo di WAT peri-epi-

miocardico associato a fibrosi, contribuiscono allo sviluppo di una disfunzione diastolica del ventricolo sinistro con scompenso cardiaco a frazione di eiezione preservata (HFpEF). I pazienti con obesità e HFpEF presentano maggiore rimodellamento concentrico del ventricolo sinistro, dilatazione del ventricolo destro e disfunzione del ventricolo destro rispetto ai controlli non obesi. Un ruolo importante nel processo viene mediato dall'ipertrofia del WAT pericardico ed epicardico (171). Da un punto di vista funzionale i pazienti obesi con HFpEF presentano una significativa riduzione nella performance motoria rispetto agli scompensati non obesi (172). Tuttavia, dal momento che può portare a coronaropatie, sindromi coronariche, cardiopatie su base ischemica e disfunzione sistolica, l'obesità può associarsi anche alla comparsa di scompenso cardiaco a frazione di eiezione ridotta (HFrEF) (146). Per finire, alcune sue complicanze, come il diabete mellito, la sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS) e la sindrome da ipoventilazione, possono portare a ipertensione polmonare e scompenso cardiaco del ventricolo destro (168).

Come accennato precedentemente, anche nel contesto dello scompenso cardiaco il WAT viscerale in generale, e quello cardiaco in particolare, giocano un ruolo fondamentale mediante la secrezione di citochine pro-infiammatorie da parte degli adipociti ipertrofici e dei macrofagi infiltranti, con induzione di ipertrofia patologica dei cardiomiociti, fibrosi miocardica e aumento della secrezione di molecole pro-aterogene e pro-trombotiche(173,174). Si può concludere che, come rappresentato nella Figura 20, da un punto di vista funzionale il cuore degli obesi vede sia una possibile disfunzione sistolica che diastolica, sia destra che sinistra, rendendo l'obesità uno dei principali fattori di rischio per lo sviluppo di scompenso cardiaco nella popolazione generale.

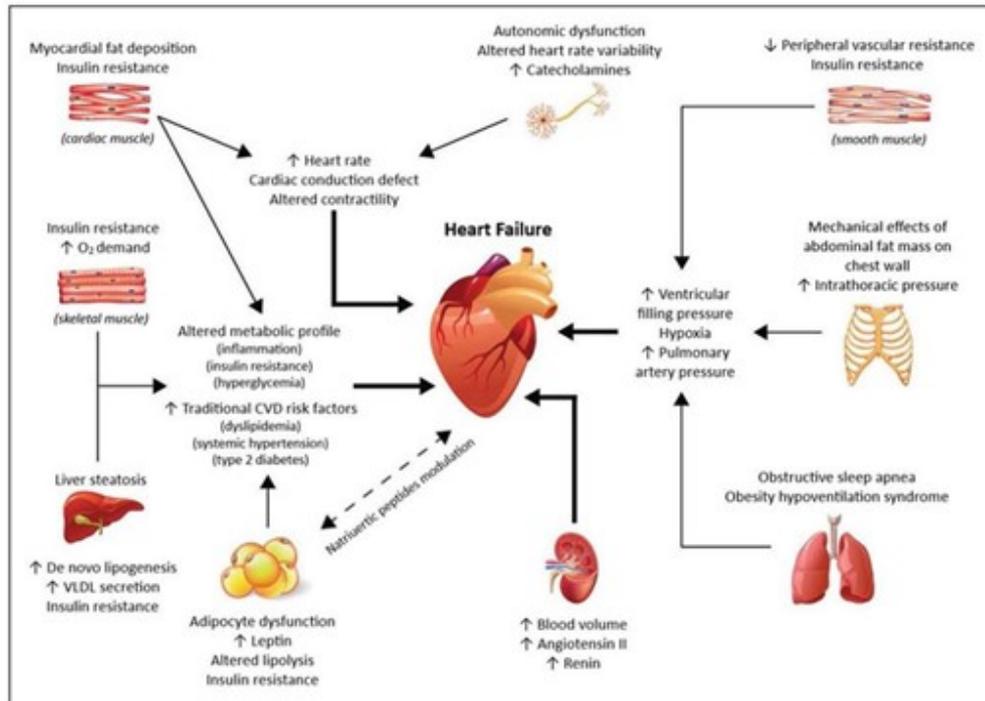


Figura 200: Fisiopatologia dello scompenso cardiaco nel paziente obeso. Immagine tratta da Powell-Wiley et al.(146).

#### 1.5.4.4 FIBRILLAZIONE ATRIALE NEL PAZIENTE OBESO

Sempre maggiori evidenze supportano il ruolo dell'eccessiva adiposità nella determinazione del rischio aritmico e, in particolar modo, nella patogenesi della fibrillazione atriale (FA) e della morte cardiaca improvvisa (Sudden Cardiac Death SCD).

Recenti statistiche suggeriscono che l'obesità potrebbe rendere conto di 1/5 dei casi di FA (con un aumento del rischio del 29% ogni 5 unità di BMI guadagnate) (175). Pre-obesità (sovrappeso) e obesità aumentano il rischio di FA inducendo un rimodellamento cardiaco strutturale ed elettrico, con sviluppo di un substrato pro-arritmico. Alcuni studi sperimentali su modelli ovini hanno mostrato che l'incremento ponderale causa il progressivo rimodellamento degli atri con deposizione di tessuto fibroso, aumento dell'espressione dei recettori dell'endotelina e anomalie nella conduzione elettrica con conseguente induzione di FA. Il processo sembra essere guidato dai depositi di WAT pericardico ed epicardico(176). Alcuni campioni biotipici di miocardio atriale, raccolti da regioni confinanti col grasso pericardico ed epicardico, mostravano infiltrazioni del

miocardio da parte del WAT con alterazioni dei voltaggi cardiomiocitari, blocchi di conduzione e predisposizione all'insorgenza di FA (177). Queste osservazioni sono state corroborate da numerosi studi clinici (178). Inoltre le modificazioni elettriche e strutturali atriali rimanevano invariate in seguito alla correzione degli altri fattori di rischio cardiovascolari pro-aritmogeni come l'ipertensione arteriosa, il diabete mellito e la sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS) (179). Questo fatto dimostra come l'obesità è un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di FA e il WAT peri-epicardico rappresenta il motore centrale del processo grazie alla secrezione di adipochine e FFA che inducono infiammazione, fibrosi e rimodellamento dei circuiti elettrici atriali (177).

#### **1.5.4.5 MORTE CARDIACA IMPROVVISA (SCD) NEL PAZIENTE OBESO**

Vi è una stretta correlazione tra obesità e morte cardiaca improvvisa (SCDP). Per ogni aumento di 5 punti di BMI il rischio di SCD aumenta del 16% e questo fatto fa sì che l'obesità sia considerata la più comune causa non ischemica di SCD (180). I possibili meccanismi coinvolti in questo processo sono l'ipertrofia del ventricolo sinistro (LVH), il prolungamento del tratto QT, le extrasistoli ventricolari e le alterazioni dell'equilibrio autonomico osservabili nel soggetto obeso (181).

L'obesità è associata all'aumento del rischio di tachicardia ventricolare (VT) e fibrillazione ventricolare (FV), quindi partecipa alla costituzione di un substrato pro-aritmogeno (182). Da un punto di vista anatomopatologico si osservano un aumento del diametro e della massa del ventricolo sinistro con ipertrofia concentrica (183), una disfunzione diastolica del ventricolo sinistro (184) e anomalie nella ripolarizzazione. Altri markers caratteristici nella SCD dell'obeso sono la frammentazione del complesso QRS (un indice di conduzione eterogenea) e la fibrosi miocardica, importanti nel causare i meccanismi di rientro ventricolari (185). Studi sperimentali su modelli animali hanno confermato il coinvolgimento di fibrosi, rimodellamento dei canali ionici e riduzione dell'espressione della proteina connexina nella patogenesi delle aritmie ventricolari letali.

Anche nel caso della SCD primeggia il ruolo patogenetico del WAT pericardico ed epicardico. L'ipertrofia del WAT peri-epicardico è stata associata a maggior frequenza di contrazioni ventricolari premature, tachicardia ventricolare, fibrillazione ventricolare e morte cardiaca improvvisa (186). In un modello ovino post-infartuato la presenza di adipe intramiocardico e la discontinuità nella conduzione ai bordi delle cicatrici fibrotiche sono state associate con l'alterazione delle proprietà elettrofisiologiche e l'aumento del rischio di tachicardia ventricolare (187). Ancora più rilevanti sono le infiltrazioni di WAT epicardico che causano fibrosi e circuiti di rientro e costituiscono un substrato fondamentale per lo sviluppo di aritmie ventricolari mortali nel paziente obeso. La Figura 21 riassume graficamente quanto detto su fibrillazione atriale e morte cardiaca improvvisa.

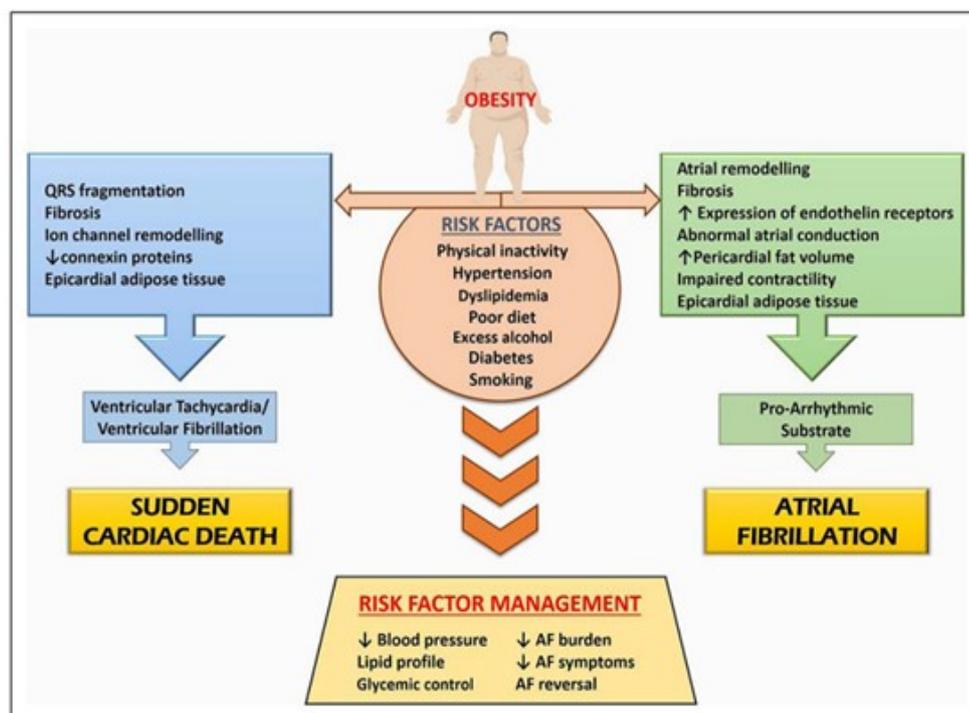


Figura 211: Relazione tra obesità e aritmie cardiache. "AF" sta per "Fibrillazione Atriale". Immagine tratta da Powell-Wiley et al. (146).

### **1.5.5 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E COMPLICANZE POLMONARI**

L'obesità è stata associata allo sviluppo di numerose patologie polmonari e delle vie aeree: polmoniti, broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), asma bronchiale, embolia polmonare, sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS) e sindrome da obesità-ipoventilazione (sindrome di Pickwick) (188). Le alterazioni endocrine e immunitarie causate dal WAT ipertrofico e infiammato partecipano alla fisiopatologia di tutti i disturbi sopra citati, tuttavia, ci si concentrerà solamente sul loro ruolo nella patogenesi dell'asma bronchiale e dell'ipertensione arteriosa polmonare (PAH).

#### **1.5.5.1 ASMA BRONCHIALE NEL PAZIENTE OBESO**

L'asma bronchiale è una malattia cronica delle vie aeree, generalmente provocata da una reazione immunologica, caratterizzata da broncocostrizione episodica dovuta a un'aumentata sensibilità delle vie aeree a una serie di stimoli ambientali, da infiammazione delle pareti bronchiali e da aumento della secrezione di muco (37). Viene classificata tra le patologie che si manifestano mediante una sindrome ostruttiva e può presentarsi con diversi fenotipi clinici e meccanismi fisiopatologici (58).

In passato la relazione tra asma e obesità veniva interpretata in modo unidirezionale: le persone asmatiche andavano incontro a una diminuzione della capacità motoria e all'uso cronico di farmaci steroidei con progressivo aumento del peso e obesità. Oggi invece si sa che la relazione tra asma bronchiale e obesità è complessa e bidirezionale, e che i pazienti asmatici affetti anche da obesità rispondono peggio alla terapia cortico-steroidica (58).

L'asma può essere classificato in allergico e non allergico, eosinofilo e non eosinofilo, caratterizzato da linfociti Th2 alti o linfociti Th2 bassi (189). La diagnosi di asma eosinofilo si fa dimostrando l'elevato numero di eosinofili nell'espettorato, oppure mediante marcatori surrogati come l'aumento degli eosinofili ematici e la misurazione della frazione di NO esalato con l'espriro (FeNO) (190). Il sistema innato e adattativo svolgono un ruolo chiave nella patogenesi dell'asma eosinofilo associato ad allergopatie, con coinvolgimento di linfociti Th2, linfociti B IgE-secerenti, mastociti, eosinofili e rilascio delle

citochine IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. Esiste anche una forma di asma eosinofilo non associato ad allergopatie, bensì a rino-sinusiti croniche e polipi nasali, con predominanza di citochine quali IL-10 e TGF $\beta$ (191). L'asma bronchiale non eosinofilo compare solitamente negli adulti e può essere classificato come neutrofilo o paucigranulocitico. I linfociti prevalenti sono i Th17 con secrezione di IL-17, IL-21 e IL-22 che reclutano i neutrofili nelle pareti bronchiali(192). Nelle forme di asma neutrofilo severo si osserva un'infiltrazione di linfociti Th1 con secrezione di IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-6(193). È curioso notare come, a livello del WAT, le citochine tipiche dell'asma eosinofilo allergico (IL-4, IL-5 e IL-13) contribuiscono a mantenere magro il soggetto polarizzando i macrofagi in senso M2 con conseguente secrezione di IL-10 e TGF- $\beta$ , mentre nell'obeso il WAT ipertrofico infiltrato da macrofagi e linfociti Th1 vede un aumento della secrezione di TNF- $\alpha$  e IL-6, le citochine tipiche dell'asma neutrofilo.

L'asma e l'obesità sono due patologie unite dall'infiammazione sistemica(194). Si può pensare che le citochine Th1 prodotte dal WAT degli obesi possano contribuire allo sviluppo o alla progressione dell'infiammazione presente nell'asma bronchiale(195). Diversi studi sono andati ad analizzare il fenotipo prevalente di asma associato con l'obesità e si è visto che l'asma neutrofilo prevale rispetto all'eosinofilo(196): i soggetti obesi presentano concentrazioni ematiche maggiori di IL-17 rispetto ai controlli non obesi e questa citochina è implicata nel reclutamento dei neutrofili a livello bronchiale(197).L'asma dell'obeso è associata anche all'aumento di TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  nel parenchima polmonare, sebbene manchi uno stimolo antigenico. Lo stesso dicasi per l'aumento di IL-6 che correla con la severità dell'attacco asmatico(198). Sembra inoltre che una dieta iperlipidica sia in grado di attivare i NLRP3 e i TLR4 dei macrofagi M1, non soltanto a livello del WAT, ma anche nel polmone, con aumento della produzione di IL-1 $\beta$ , IL-17 e richiamo di ulteriori neutrofili(199).

Da un punto di vista endocrinologico, l'aumento della produzione di leptina e la diminuzione dell'adiponectina da parte del WAT ipertrofico correlano con l'insorgenza di asma. La leptina è un ormone immunostimolante e a livello polmonare agisce in modo Th2-indipendente favorendo l'insorgenza di forme d'asma correlate all'attivazione di altre classi di linfociti T helper(200). Anche l'iperinsulinemia nel contesto della sindrome metabolica può portare ad

alterazioni bronchiali tipiche dell'asma e in alcuni studi viene indicata come un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di tale patologia(201). La Figura 22 ricorda come l'obesità sia correlata prevalentemente a forme d'asma non eosinofilo, in quanto in entrambi i quadri prevale l'attivazione dei linfociti Th1 e dei macrofagi M1. Nell'asma eosinofilo invece prevalgono i linfociti Th2 che, a livello adiposo, stimolano i macrofagi M2 inducendo un microambiente anti-flogogeno che si oppone allo sviluppo di obesità.

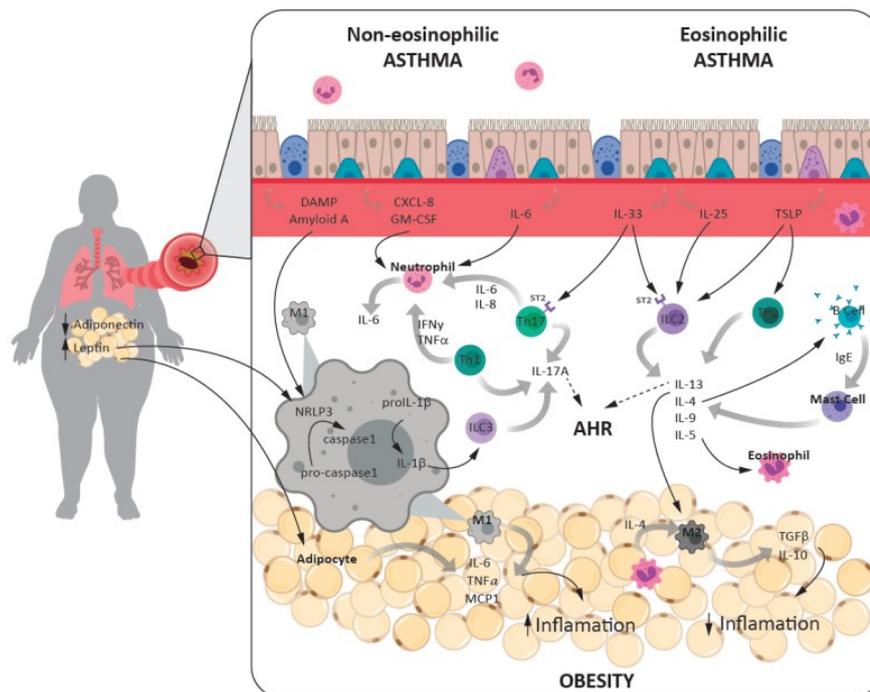


Figura 222: L'obesità è associata prevalentemente all'asma non eosinofilo con il quale condivide l'attivazione dei linfociti Th1, Th17 e dei macrofagi M1. L'asma eosinofilo si associa all'attivazione dei linfociti Th2 e dei macrofagi M2 che riducono la flogosi del WAT proteggendolo dallo sviluppo di obesità. L'acronimo "AHR" sta per "Iper-Reattività delle vie Aeree" e si riscontra come caratteristica comune tra asma eosinofilo e non eosinofilo. Immagine tratta da Bantulà et al.(194).

### 1.5.5.2 IPERTENSIONE ARTERIOSA POLMONARE NEL PAZIENTE OBESO

L'ipertensione arteriosa polmonare (PAH) è una patologia cardio-polmonare cronica e progressiva che può presentarsi come complicanza dell'obesità per mezzo di diversi meccanismi fisiopatologici, molti dei quali non ancora compresi(121). Negli ultimi anni si è posto l'accento sulla correlazione tra PAH, infiammazione perivascolare, infiammazione sistemica (di cui l'obesità è una

delle principali cause) e autoimmunità. Comprendere in che modo la flogosi sistemica causata dall'obesità e i possibili meccanismi autoimmunitari obesità-correlati impattino sull'ipertensione polmonare, potrebbe contribuire ad aggiungere un ulteriore tassello nel puzzle della patogenesi e della fisiopatologia di questa grave malattia.

#### **1.5.5.2.1 RUOLO DELL'INFIAMMAZIONE E DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA NELLA PATOGENESI DELL'IPERTENSIONE POLMONARE**

Il coinvolgimento della risposta infiammatoria e della risposta immunitaria nella patogenesi della PAH si può intuire esaminando i preparati istologici al microscopio: le lesioni vascolari polmonari sono caratterizzate da vari gradi di infiltrato infiammatorio perivascolare, in cui si possono distinguere linfociti T, linfociti B, macrofagi, cellule dendritiche e mastociti. Alcuni recenti studi hanno messo in evidenza la relazione tra infiltrato infiammatorio perivascolare, aumento dello spessore della parete vascolare e incremento dei valori pressori nel circolo polmonare(202). Anche i modelli sperimentali hanno confermato come lo sviluppo dell'infiltrato perivascolare preceda il rimodellamento vasale, essendone quindi una causa e non una conseguenza. Inoltre si sono riscontrati elevati livelli circolanti di citochine e chemochine quali TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e MCP-1, le stesse che aumentano nell'obesità, che nella PAH correlano con la severità della malattia(203).

Nella PAH le citochine vengono prodotte sia dalle cellule vascolari polmonari, sia dai macrofagi infiltranti. IL-1 $\beta$  induce la secrezione di FGF-2 che, insieme a IL-6, stimola la proliferazione delle cellule muscolari lisce e dei fibroblasti della tonaca vasale(204). Anche le mutazioni loss of function del gene BMPR2, tipiche della PAH, portano ad un aumento delle concentrazioni di fattori di crescita e citochine pro-infiammatorie a livello vascolare. Il conseguente aumento di TNF $\alpha$  induce la secrezione di GM-CSF che stimola la granulocitopoiesi e la monocitopoiesi a livello midollare(205).

Da un punto di vista citologico, nei soggetti affetti da PAH si è registrato un alterato funzionamento dei linfociti Treg, la cui produzione dipende dalla presenza del gene BMPR2 wild type, che invece si trova mutato in questa patologia(206). Il

deficit di Treg predispone alla comparsa di fenomeni autoimmuni effettivamente rilevati nell'ipertensione polmonare associata alla sclerosi sistemica, in cui gli autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR sono implicati nella patogenesi della malattia(207). In modelli sperimentali si è riscontrata anche la presenza di cellule dendritiche immature nelle pareti arteriose ipertrofiche, suggerendo come esse possano essere implicate nel processo immunopatologico(208). Inoltre, la presenza di aggregati linfoidi polmonari può costituire il substrato strutturale per lo sviluppo di una risposta autoimmune, ipotesi supportata anche dal riscontro di numerosi autoanticorpi circolanti(209). I macrofagi CD68+ costituiscono tuttavia il tipo cellulare più rappresentato nelle lesioni plessiformi proliferative avanzate dei modelli sperimentali e clinici di PAH(210). Essi rilasciano citochine pro-infiammatorie e leucotrieni B4 (LTB4) che inducono la proliferazione dei fibroblasti vascolari, delle cellule muscolari lisce e l'apoptosi delle cellule endoteliali dell'arteria polmonare(211). Mentre negli animali con normale funzionamento dei linfociti Treg si ha un'inibizione macrofagica con guarigione tissutale, nei pazienti con PAH il deficit di linfociti immuno-regolatori e l'iperattivazione dei linfociti Th1 promuovono, attraverso l'aumento di TNF- $\alpha$ , l'attivazione macrofagica e la progressione del danno vascolare(212). Per finire, anche i neutrofili giocano un ruolo importante nella patogenesi immuno-mediata della PAH. Mediante l'azione dell'elastasi neutrofila inducono il rimodellamento della matrice extracellulare della tonaca avventizia vascolare con rilascio di fattori di crescita per le cellule muscolari lisce (213) e sostanze chemoattrattanti per i globuli bianchi ematici(214). Appare quindi evidente il ruolo della risposta infiammatoria e del sistema immunitario nella patogenesi dell'ipertensione arteriosa polmonare, come raffigurato nella Figura 23.

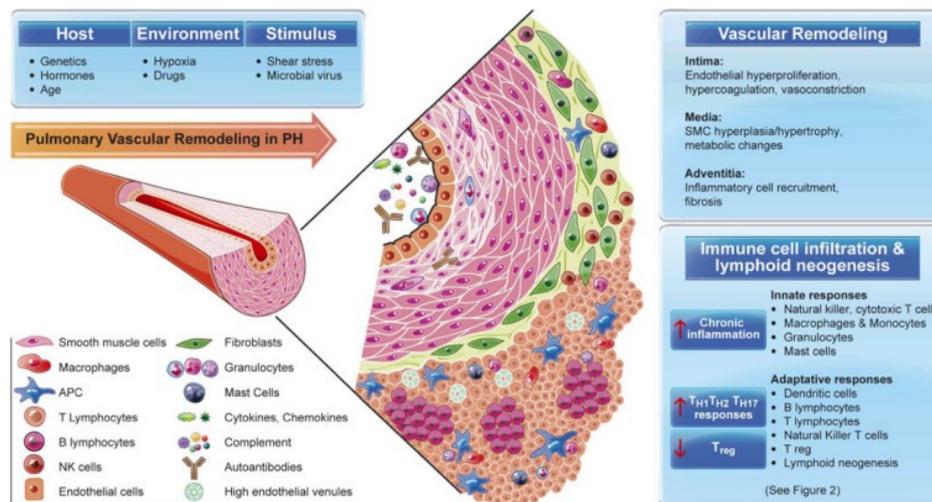


Figura 233: Cause, rimodellamento vascolare e ruolo del sistema immunitario innato e adattativo nella patogenesi dell'ipertensione arteriosa polmonare. Immagine tratta da Rabinovitch et al.(215).

### 1.5.5.2.2 MECCANISMI PATOGENETICI IMPLICATI NELLO SVILUPPO DELL'IPERTENSIONE POLMONARE DELL'OBESO

L'obesità può associarsi allo sviluppo di ipertensione polmonare. Studi autoptici retrospettivi hanno riscontrato un aumento dell'ispessimento della tonaca media vascolare nel 44% dei soggetti obesi, indicando una diffusa prevalenza di ipertensione arteriosa polmonare sub-clinica o clinicamente rilevante(120).

In passato si pensava che la relazione tra obesità e PAH fosse da attribuire all'aumento delle resistenze dei vasi polmonari causato dall'ipossia alveolare ed ematica secondaria alla sindrome delle apnee ostruttive del sonno e alla sindrome di Pickwick(216). L'ipossia è un fattore chiave nella fisiopatologia del PAH dell'obeso in quanto è responsabile della vasocostrizione ipossica, tuttavia non agisce da sola. L'aumento delle pressioni del circolo polmonare può essere attribuito anche alle complicanze retrograde dello scompenso cardiaco a frazione di eiezione preservata (HFpEF) tipico dell'obeso, ma anche all'azione di ormoni e citochine secreti dal WAT ipertrofico e infiammato(156).

Alcuni studi sperimentali hanno dimostrato che topi ob/ob con mutazioni LOF del gene della leptina, oltre ad essere obesi, sviluppava PAH in seguito al rimodellamento spontaneo dei vasi sanguigni polmonari(217).Inoltre, anche gli estrogeni sono coinvolti nella patogenesi della malattia, in quanto gli effetti del deficit leptinico sono attenuati dalla soppressione della produzione estrogenica

endogena(218).Sebbene la maggior parte delle obesità sia caratterizzata dall'aumento delle concentrazioni di leptina, lo sviluppo di leptino-resistenza rende il soggetto progressivamente sordo allo stimolo leptinico favorendo la comparsa di PAH. L'obesità si associa anche all'aumento delle concentrazioni ematiche di  $TNF\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , le citochine pro-infiammatorie implicate nella patogenesi generale della PAH. Le loro azioni sul macrocircolo e sul microcircolo polmonare contribuiscono allo sviluppo di stress ossidativo, insulino-resistenza, ipertrofia del WAT perivascolare e quindi rimodellamento della parete arteriosa(109). Per finire, l'iperuricemia dell'obeso funge da fattore di rischio indipendente riducendo la produzione di NO da parte dell'endotelio polmonare e aumentando quella di endotelina con ulteriore disfunzione del microcircolo polmonare(219).

Vista l'importante relazione tra PAH e autoimmunità nel caso della sclerosi sistemica(215), dal momento che recenti studi hanno messo in luce la relazione tra obesità, iperleptinemia e malattie autoimmuni(220), resta da capire se tra i fattori che consentono l'insorgenza di ipertensione polmonare nel soggetto obeso vi siano anche meccanismi autoimmuni come la presenza di autoanticorpi o linfociti T autoreattivi diretti contro l'endotelio dei vasi polmonari.

### 1.5.6 OBESITÀ, INFIAMMAZIONE E ALTRE PATOLOGIE ORGANO-SPECIFICHE

Oltre alle complicanze endocrino-metaboliche, cardiovascolari e polmonari, l'obesità si associa a complicanze coinvolgenti altri organi e apparati:

- complicanze nefrologiche: glomerulopatia dell'obeso(221)e CKD (Chronic Kidney Disease) (222)dell'obeso;
- complicanze gastroenterologiche: infiammazione gastroenterica e alterazioni del microbiota intestinale dell'obeso (l'alterazione del microbiota sembra in realtà una causa di obesità più che una conseguenza)(43);
- complicanze epatologiche: non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), non-alcoholic steatohepatitis (NASH) e cirrosi epatica su base metabolica dell'obeso(43);
- complicanze oncologiche: adenocarcinoma dell'esofago, adenocarcinoma del fondo gastrico, adenocarcinoma del colon-retto, epatocarcinoma, carcinoma della colecisti, colangiocarcinoma, adenocarcinoma pancreatico, neoplasie della tiroide, neoplasie della mammella, neoplasie dell'endometrio e delle ovaie, neoplasie del rene, meningiomi intra-cranici e del midollo spinale, mieloma multiplo dell'obeso(223);
- complicanze ematologiche: leucocitosi idiopatica, alterazioni del metabolismo del ferro, trombocitosi e malattie trombo-emboliche dell'obeso(224);
- complicanze reumatologiche: psoriasi e artrite psoriasica dell'obeso(225);
- complicanze neurologiche: neuroinfiammazione e demenze subcliniche dell'obeso(226);
- complicanze psichiatriche: depressione maggiore e disturbi d'ansia dell'obeso(227).

In tutte queste patologie l'obesità contribuisce alla patogenesi con gli stessi meccanismi visti nelle complicanze endocrino-metaboliche, cardiovascolari e pneumologiche: modifica la bilancia autonoma in senso ortosimpatico, altera gli equilibri ormonali aumentando la concentrazione di leptina e diminuendo quella di adiponectina, e crea una condizione di infiammazione sistemica di basso grado mediante la secrezione di  $TNF\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6. Tutte queste alterazioni neuro-endocrino-immunologiche contribuiscono a creare un substrato umorale da cui

possono svilupparsi tutte le complicanze sistemiche dell'obesità. Da un punto di vista immunologico, nella fisiopatologia dell'obesità, l'immunità innata recita la parte del leone, tuttavia sempre maggiori evidenze suggeriscono la partecipazione dell'autoimmunità nella patogenesi di alcune complicanze sistemiche. Questo settore è uno dei major topic della ricerca obesiologica contemporanea.

## 1.6 OBESITÀ E AUTOIMMUNITÀ

Sempre maggiori evidenze mettono in luce l'aumento dell'incidenza di malattie autoimmuni nei soggetti affetti da obesità. Tuttavia, mentre le correlazioni tra obesità e infiammazione cronica sono state esaustivamente descritte, i meccanismi che legano obesità e autoimmunità restano in parte da chiarire.

Le principali prove dell'esistenza di una relazione tra obesità e autoimmunità vengono da studi che hanno indagato il ruolo della leptina sul sistema immunitario. È stato osservato che la riduzione della leptina o dell'espressione del suo recettore sono associati a un aumento del rischio di infezioni e alla diminuzione delle malattie autoimmuni. Viceversa, l'aumento dei livelli di leptina sopprime i linfociti T regolatori, favorisce i Th1 e i Th17, e con essi lo sviluppo di malattie autoimmuni (220).

Altri meccanismi proposti per spiegare la relazione tra obesità e autoimmunità coinvolgono le modificazioni nei livelli di TNF $\alpha$  e IL-6 che sono forti induttori dei linfociti Th17, i quali esacerbano fenomeni autoimmunitari in numerosi modelli murini (228,229).

Anche la proteina AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophages), prodotta dai macrofagi per aumentare la propria sopravvivenza, gioca un ruolo sempre più evidente nella patogenesi delle malattie autoimmuni. AIM forma degli immunocomplessi con le IgM autoreattive legate ai propri autoantigeni e ne promuove la ritenzione nelle cellule follicolari dendritiche con presentazione ai linfociti B follicolari e sintesi di IgG autoreattive (230).

Altre teorie sostengono che le alterazioni nutrizionali del soggetto obeso esposto a una dieta iperlipidica e iperglucidica causino una disbiosi con alterazione del microbiota intestinale e alterazione dell'equilibrio tra linfociti Th17 e Treg e predisposizione allo sviluppo di malattie autoimmuni (231).

Anche i deficit di vitamina D dell'obeso impattano sul sistema immunitario, dal momento che questa vitamina è importante per il differenziamento dei linfociti Treg (232,233).

Per finire, l'inflammosoma NLRP3, un complesso proteico implicato nella secrezione di IL-1 $\beta$  e coinvolto in diverse patologie autoimmuni, può essere attivato nei macrofagi da numerosi fattori associati con l'obesità, come i ceramidi, gli acidi grassi saturi e i ROS. Si può concludere che le modificazioni degli ormoni adipocitari presenti nei soggetti obesi creano un microambiente favorevole su cui si possono innestare processi autoimmuni (234).

Diversi studi supportano l'aumento del rischio di artrite reumatoide (Odds Ratio "OR" = 1,2-3,4), sclerosi multipla (OR= 2), psoriasi e artrite psoriasica (OR= 1,48- 6,46) nei soggetti obesi. Viene suggerito anche un aumento del rischio di diabete mellito di tipo 1, tiroiditi autoimmuni e malattie infiammatorie croniche intestinali. Inoltre, l'obesità peggiora il decorso di artrite reumatoide, lupus eritematoso sistemico, psoriasi, artrite psoriasica e malattie infiammatorie croniche intestinali e altera la risposta al trattamento in artrite reumatoide, malattie infiammatorie croniche intestinali, psoriasi e artrite psoriasica (235). Nuovi studi stanno studiando l'impatto dell'obesità nei soggetti affetti da sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (236), miopatie infiammatorie (237) e artrite idiopatica giovanile (238), e anche in questo caso i primi dati suggeriscono una correlazione positiva statisticamente significativa. La Figura 24 riassume alcuni dei possibili meccanismi che determinano l'aumento del rischio di malattie autoimmuni nel soggetto obeso.

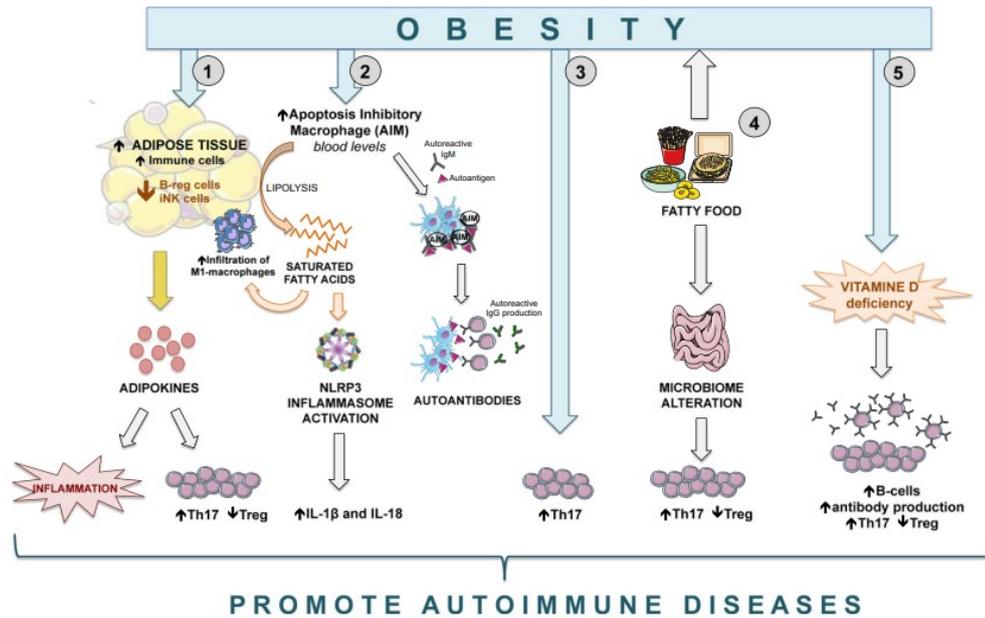


Figura 244: Ruolo dell'obesità nella patogenesi delle malattie autoimmuni. Mediante i cinque meccanismi rappresentati (alterazione nella secrezione di adipochine, attivazione dell'inflammosoma NLRP3 e produzione di autoanticorpi, aumento dei linfociti Th17, alterazioni del microbiota intestinale e deficit di vitamina D) si ottengono un aumento dei linfociti Th17, una diminuzione dei linfociti Treg, un aumento delle citochine pro-infiammatorie e un aumento degli autoanticorpi, con promozione della comparsa di malattie autoimmuni. Immagine tratta da Versini et al. (235).

### 1.6.1 POPOLAZIONI LINFOCITARIE DEL WAT DEGLI OBESI

Il WAT ipertrofico dei soggetti obesi viene infiltrato non solo da macrofagi, ma anche da linfociti. I linfociti T CD8<sup>+</sup> sono preposti all'uccisione di cellule infettate da patogeni intracellulari, mentre i linfociti T CD4<sup>+</sup> operano come Helper cells (Th) che sostengono la funzione delle altre cellule immunitarie: i Th1 supportano i linfociti T CD8<sup>+</sup>, i Th2 i linfociti B anticorpo-secerenti, i Th17 le cellule del sistema immunitario innato, mentre i T regolatori (Treg) garantiscono il mantenimento dell'immunosoppressione verso il self. Nel WAT degli obesi si osservano dei cambiamenti nella popolazione linfocitaria rispetto a quello dei soggetti sani. Mentre nel soggetto sano prevalgono i linfociti Treg, i macrofagi M2 e le citochine antinfiammatorie (IL-10 e TGF-β), nel paziente obeso si hanno una diminuzione dei linfociti Treg e un aumento dei Th1/Th17. Questo fatto comporta una polarizzazione dei macrofagi in senso M1, l'aumento della secrezione di citochine pro-infiammatorie (TNF-α, IL-1, IFNγ), lo sviluppo di

insulino-resistenza e l'aumento della probabilità di sviluppare patologie autoimmuni (220).

## **1.6.2 RUOLO DELLE ADIPOCHINE NELLE MALATTIE AUTOIMMUNI**

Dal momento che il WAT produce più di 50 ormoni, e le loro concentrazioni sono alterate nell'obesità, molti studi si sono concentrati nell'esaminare se e come essi sono implicati nell'aumento del rischio di malattie autoimmuni nell'obeso. Nei seguenti paragrafi ci si concentrerà prevalentemente sul ruolo della leptina, dell'adiponectina, della resistina e della visfatina (235).

### **1.6.2.1 LEPTINA E MALATTIE AUTOIMMUNI**

Il WAT è un organo endocrino secernente ormoni e citochine indicati complessivamente con il termine "adipochine". Le adipochine non giocano un ruolo importante esclusivamente nella risposta infiammatoria, ma anche nello sviluppo delle malattie autoimmuni. Tra tutte la più studiata è la leptina: topi KO per leptina o per il suo recettore (LEPR), oltre ad essere obesi, presentano alterazioni immunologiche.

La leptina è un ormone strutturalmente molto simile all'IL-6. Quasi tutte le cellule del sistema immunitario esprimono il suo recettore LEPR e l'aumento dei livelli di leptina può contribuire alla loro attivazione(239). La leptina induce la secrezione di citochine pro-infiammatorie quali IL-6 e TNF- $\alpha$  ed è importante per la funzione macrofagica: macrofagi che non esprimono LEPR presentano una ridotta capacità fagocitica e di killing microbico (240).

Anche la risposta immunitaria adattativa è influenzata dalla leptina. Nei pazienti obesi, livelli aumentati di leptina stimolano l'attivazione dei linfociti Th1, Th17 e dei T citotossici CD8<sup>+</sup>, mentre sopprimono i Th2 e i T regolatori(241). Ciò comporta l'aumento della secrezione di IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e la riduzione di IL-4 e IL-10. Si è visto come in condizioni di ipoleptinemia (durante il digiuno, in presenza di mutazioni LOF del gene codificante per la leptina o il suo recettore e in pazienti affetti da lipodistrofia) viene favorita la proliferazione dei linfociti T regolatori con diminuzione del rischio di sviluppare malattie autoimmuni e aumento del rischio di infezioni, mentre in condizioni di iperleptinemia

(nell'ipernutrizione e nell'obesità) si può instaurare una disfunzione del sistema immunitario con aumento del rischio di sviluppare malattie autoimmuni. La Figura 25 riassume graficamente i concetti finora esposti.

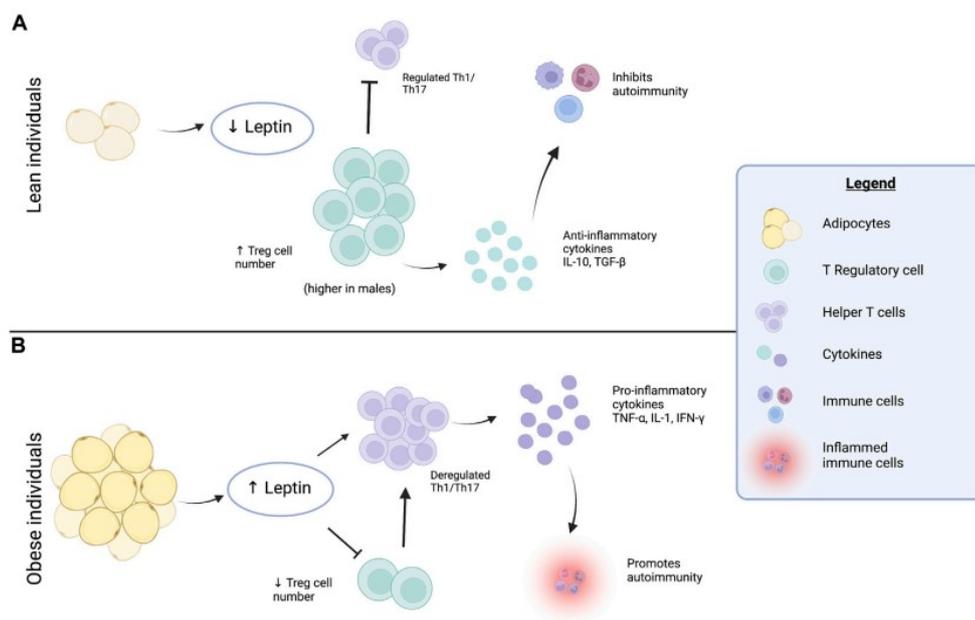


Figura 255: Ruolo della leptina nella modulazione del sistema immunitario innato e adattativo. Immagine tratta da Kwiat et al.(220).

Topi knock-out per i geni codificanti “leptina” si sono mostrati protetti dall’induzione di numerose patologie autoimmuni, tra cui l’encefalomielite autoimmune(242), alcune glomerulonefriti immune-mediate(243), le artriti autoimmuni(244), l’epatite autoimmune(245), le malattie infiammatorie croniche intestinali(246) e il lupus eritematoso sistemico(247). In questi modelli murini la somministrazione di leptina ristabiliva lo stesso rischio di sviluppare patologie autoimmuni riscontrato nei topi wild type. Studi in vitro hanno suggerito come la leptina favorisca anche la presentazione di antigeni self alle cellule T autoreattive. Nell’uomo è stata osservata l’espressione di leptina da parte delle cellule T nei linfonodi e nelle lesioni infiammatorie del SNC tipiche dell’encefalomielite acuta e della sclerosi multipla(242).

### 1.6.2.2 ADIPONECTINA E MALATTIE AUTOIMMUNI

L’adiponectina è un ormone le cui concentrazioni diminuiscono nei soggetti obesi mentre aumentano nel soggetto magro. Da un punto di vista funzionale aumenta la sensibilità sistemica all’insulina ed è un’adipochina antinfiammatoria. Agisce

soprattutto sull'endotelio vascolare inibendo l'espressione indotta da  $TNF\alpha$  di molecole d'adesione come VCAM-1 ed E-selectina. Ne deriva una riduzione dell'adesione monocitaria alle cellule endoteliali. Altri effetti antinfiammatorie sono l'inibizione della differenziazione, della proliferazione e dell'attività fagocitica dei macrofagi e della loro secrezione di  $TNF\alpha$  in risposta alla stimolazione da parte di LPS (lipopolisaccaride). Promuove invece la fagocitosi dei corpi apoptotici delle cellule senescenti prevenendo l'attivazione di una risposta infiammatoria stimolata da DAMPs. Induce la secrezione di citochine antinfiammatorie come IL-10 e l'antagonista del recettore di IL-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$  RA). Stimola l'aumento del numero di linfociti Treg, sopprime l'attività citotossica delle cellule NK, inibisce l'attivazione e la proliferazione dei linfociti T e la linfopoiesi dei linfociti B.

L'adiponectina, pertanto, è un ormone che in condizioni fisiologiche protegge dall'insorgenza di malattie autoimmuni, tuttavia nel soggetto obeso, a causa della riduzione delle sue concentrazioni ematiche, l'effetto protettivo viene meno(235).

#### **1.6.2.3 RESISTINA E MALATTIE AUTOIMMUNI**

La resistina è un ormone adipocitario le cui concentrazioni aumentano nell'obesità. Venne così chiamata in quanto in origine si pensava mediasse l'insorgenza di insulino-resistenza. Tuttavia, mentre questa proprietà è stata ampiamente documentata nei modelli animali, i dati ottenuti nell'uomo sono controversi. Nella specie umana la resistina potrebbe essere coinvolta maggiormente nella modulazione dei processi infiammatori. La sua secrezione viene stimolata dalle citochine  $TNF\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 e induce a sua volta la secrezione di citochine pro-infiammatorie e molecole di adesione endoteliali mediante un meccanismo a feedback positivo. Stimola la secrezione linfocitaria di citochine Th1, tuttavia il suo ruolo nelle malattie autoimmuni resta da chiarire(248).

#### **1.6.2.4 VISFATINA E MALATTIE AUTOIMMUNI**

La visfatina è un ormone adipocitario originariamente classificato come fattore di crescita per i precursori dei linfociti B. Sembra aumentare nei soggetti obesi, anche se i dati sono controversi. È un potente induttore di infiammazione e

stimola la secrezione di  $TNF\alpha$ ,  $IL-1\beta$  e  $IL-6$  da parte dei leucociti. Promuove l'attivazione dei linfociti T aumentando l'espressione da parte dei macrofagi delle molecole costimolatrici CD40, CD54 e CD80. Agisce anche come forte sostanza chemiotattica per i monociti e i linfociti. Nonostante l'importante funzione stimolatrice nei confronti dell'immunità innata e adattativa, il suo ruolo nella patogenesi delle malattie autoimmuni resta da chiarire (235).

In conclusione, soltanto la leptina è per il momento correlata con la patogenesi delle malattie autoimmuni, anche se altri ormoni adipocitari modulano la funzione dell'immunità innata e adattativa. Le Figure 26 e 27 riassumono graficamente le funzioni esercitate dalle adipochine sulle cellule dell'immunità innata e adattativa.

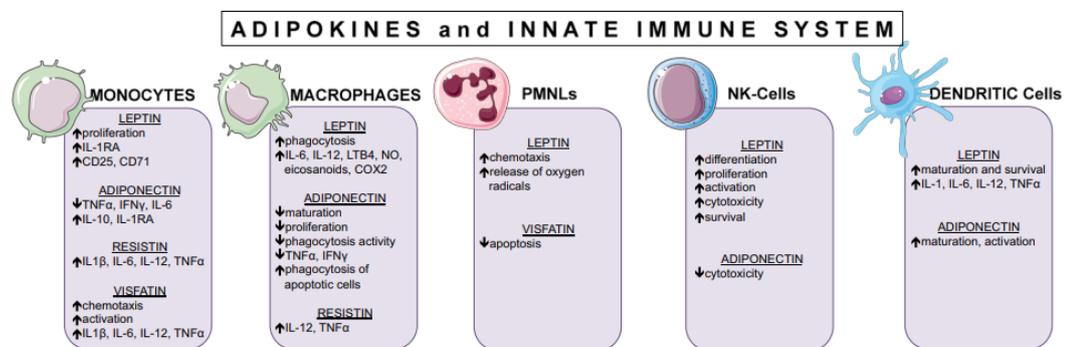


Figura 26: Ruolo delle adipochine nella modulazione delle cellule del sistema immunitario innato. Immagine tratta da Versini et al.(235).

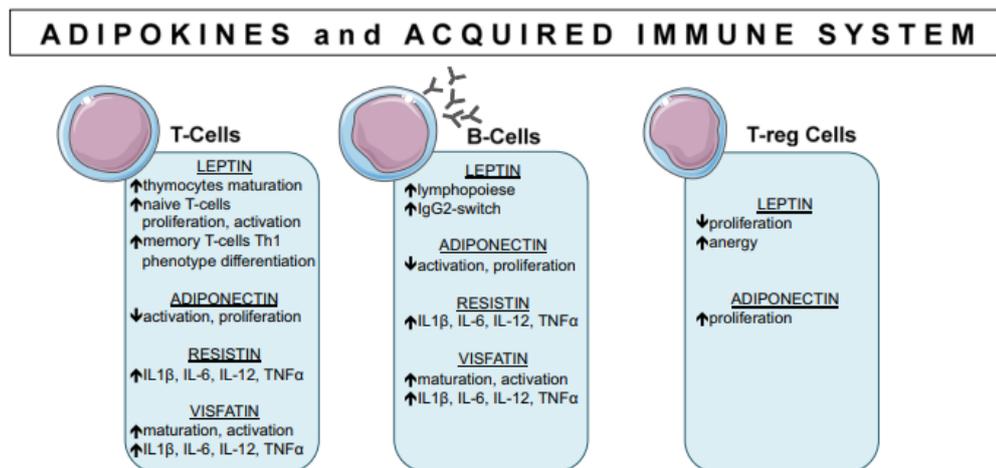


Figura 27: Ruolo delle adipochine nella modulazione delle cellule del sistema immunitario adattativo. Immagine tratta da Versini et al.(235).

### 1.6.3 MALATTIE AUTOIMMUNI CORRELATE ALL'OBESITÀ

Numerosi studi hanno suggerito come l'obesità aumenti il rischio di sviluppare artrite reumatoide, sclerosi multipla, psoriasi e artrite psoriasica, e potrebbe promuovere l'insorgenza di malattie infiammatorie croniche intestinali, diabete mellito di tipo 1 e tireopatie autoimmuni. Inoltre, i pazienti obesi vanno incontro a peggioramento del decorso di artrite reumatoide, lupus eritematoso sistemico, malattie infiammatorie croniche intestinali, psoriasi e artrite psoriasica. Da un punto di vista farmacologico si nota una riduzione della risposta terapeutica nell'artrite reumatoide, nelle malattie infiammatorie croniche intestinali, nella psoriasi e nell'artrite psoriasica (235). Altre patologie in cui si sta indagando l'impatto dell'obesità sono la sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (236,249), le miopatie immunomediate (237), l'artrite idiopatica giovanile (238) e l'ipertensione arteriosa polmonare. Alcuni studi sembrano supportare il coinvolgimento dell'obesità e delle adipochine anche in queste patologie. La Figura 28 riassume il ruolo delle citochine e degli ormoni del WAT nella patogenesi delle malattie autoimmuni associate all'obesità che si andranno ad analizzare.

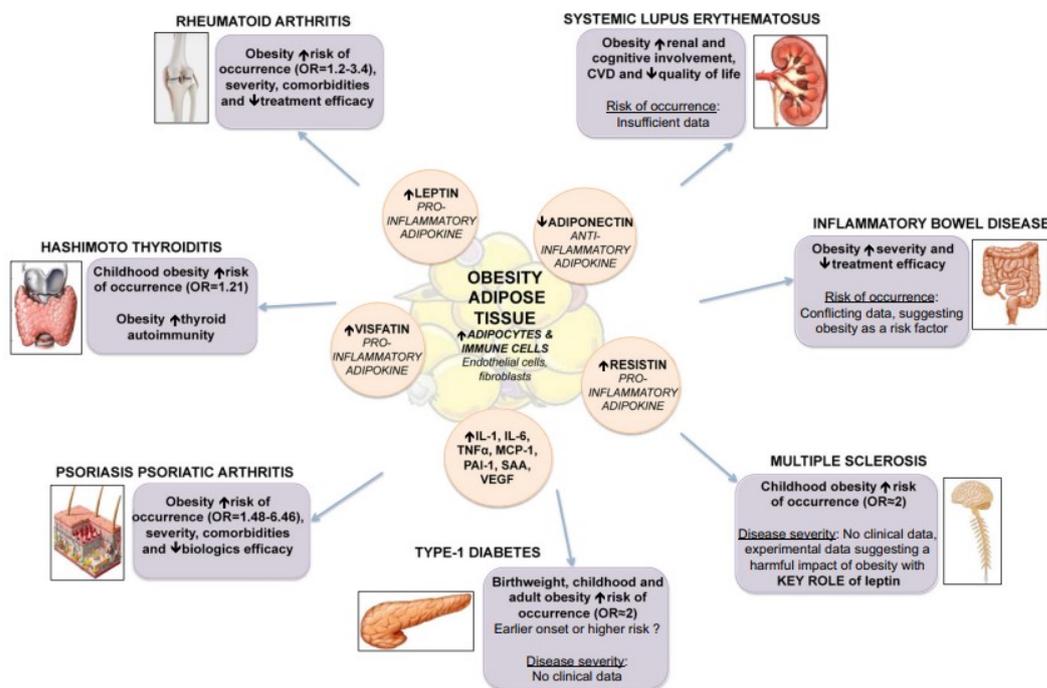


Figura 28: Ruolo delle citochine e degli ormoni del WAT nella patogenesi, nella prognosi e nella terapia delle principali malattie autoimmuni associate all'obesità (o supposte tali). Immagine tratta da Versini et al.(235).

### 1.6.3.1 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ E ARTRITE REUMATOIDE

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia autoimmune caratterizzata dall'infiammazione cronica delle membrane sinoviali. Se non trattata, porta a sviluppare erosioni articolari distruttive, irreversibili e responsabili di disabilità e alterazione della qualità di vita. Può dare anche complicanze extra-articolari coinvolgenti la cute, il cuore, i polmoni, gli occhi, i reni e il sangue (37).

La maggior parte dei pazienti affetti da AR sono caratterizzati dalla presenza di "cachessia reumatoide", ovvero dalla diminuzione della massa muscolare e dalla preservazione o dall'aumento del WAT (250).

Meno si sa invece sulle correlazioni dirette presenti tra obesità e AR. Tuttavia, è evidente che le due patologie condividono diverse caratteristiche, dall'infiammazione sistemica alle complicanze cardio-vascolari. Diversi studi hanno associato l'obesità con l'aumento del rischio di AR, in particolare con la forma sieronegativa senza autoanticorpi (251,252). Altri invece non hanno fatto emergere questa relazione, che resta pertanto controversa (253,254).

Più chiara è invece la relazione tra obesità e aumento della severità dell'artrite reumatoide (255) e delle sue complicanze metaboliche come il diabete mellito di tipo 2, le malattie cardiovascolari e le malattie polmonari (256).

Da un punto di vista endocrinologico si è visto che i soggetti affetti da AR presentano un aumento delle concentrazioni sieriche di leptina, visfatina, resistina e adiponectina rispetto ai controlli sani (257), e questo aumento correla con l'aumento della severità della malattia (244). Dal momento che questi ormoni sono aumentati nei soggetti obesi, i dati suggeriscono come l'AR sia più severa nei pazienti obesi. È tuttavia vero che altri dati mostrano il ruolo protettivo che l'obesità ha verso il danno articolare radiografico (258). Possibili spiegazioni per questo fenomeno sono la stimolazione della sintesi ossea da parte dell'aumento del peso corporeo e l'aumento delle concentrazioni di estrogeni osteoprotettivi nei soggetti obesi (259). È altresì vero che l'aumento di leptina, resistina e visfatina nel liquido sinoviale è stato associato all'aumento del danno articolare (260,261). Anche alcuni modelli in vitro hanno mostrato lo stesso risultato per via dell'induzione della secrezione da parte dei fibroblasti sinoviali di citochine pro-infiammatorie e metalloproteasi che contribuiscono alla patogenesi della malattia (262–264).

Per finire, tutti gli studi che hanno indagato l'effetto dell'obesità sul trattamento dei pazienti affetti da AR, hanno suggerito un più basso tasso di remissione nei soggetti obesi (265). Si può riassumere che l'obesità può predisporre modestamente all'insorgenza di artrite reumatoide, soprattutto delle forme ACPA (autoanticorpi anti-peptidi citrullinati) negative, si associa a severità maggiore e a una ridotta risposta alla terapia. Molti di questi effetti sembrano attribuibili all'aumento dei livelli circolanti di adipochine, anche se sono necessari altri studi per indagare meglio il meccanismo (235).

### **1.6.3.2 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ E LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO**

Il lupus eritematoso sistemico (LES) è un disordine autoimmune cronico caratterizzato da coinvolgimento sistemico. La clinica può variare in uno spettro che va da una forma lieve caratterizzata da rash cutaneo e artrite non erosiva a una forma severa con glomerulonefrite lupica, disordini neuro-psichiatrici, coinvolgimento cardiaco e plurimi danni sistemici da deposito d'immunocomplessi circolanti. (37)

Fino ad ora non vi sono studi che dimostrino una connessione tra obesità e LES, tuttavia, è anche vero che l'associazione è stata poco studiata (266). Inoltre, recenti evidenze affermano che la leptina, comunemente elevata nel soggetto obeso, potrebbe promuovere la sopravvivenza e la proliferazione dei linfociti T autoreattivi (267), l'espansione dei linfociti Th17(268) e la diminuzione dei Treg nei modelli murini predisposti a sviluppare LES (269).

Dal momento che la prevalenza di soggetti affetti da lupus che sono anche obesi varia dal 28% al 50% (270), si è studiato l'impatto che l'obesità ha sulla severità della malattia. Nonostante diversi studi non mostrassero alcuna correlazione tra leptinemia e modificazione negli score di severità (271,272), in un modello murino lupus-prone il deficit di leptina migliorava la severità del LES ed era associato alla diminuzione degli autoanticorpi anti-dsDNA (247). Altri studi hanno associato l'obesità con un aumento del rischio di sviluppare nefrite lupica (271) e malattie cardiovascolari (273). L'effetto sembra mediato rispettivamente dalle citochine pro-infiammatorie TNF $\alpha$  e IL-6 e dall'aumento di leptina.

In conclusione, l'associazione tra obesità e lupus eritematoso sistemico non è ancora stata investigata fino in fondo. Appare tuttavia evidente come l'aumento del BMI sia correlato a complicanze renali e neurologiche più severe, al peggioramento della qualità di vita e all'aumento del rischio cardiovascolare. Inoltre, numerosi dati sperimentali mostrano il coinvolgimento delle citochine pro-infiammatorie nella patogenesi del LES e delle sue complicanze aterosclerotiche (235).

### **1.6.3.3 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ, PSORIASI E ARTRITE PSORIASICA**

Il paziente obeso presenta un aumento del rischio di sviluppare psoriasi e artrite psoriasica. La psoriasi è una comune dermatosi infiammatoria cronica caratterizzata dalla presenza di placche cutanee eritemato-squamose. Nel 15% dei pazienti si associa con l'artrite psoriasica, un'artropatia infiammatoria cronica che colpisce prevalentemente le articolazioni assiali e le entesi, le strutture che consentono l'inserzione dei tendini nelle ossa (37). L'artrite psoriasica condivide molte caratteristiche cliniche, genetiche ed eziopatogenetiche con altre forme di spondilo-enteso-artriti, come la spondilite anchilosante, l'artrite reattiva e l'artrite associata alle IBD. L'artrite psoriasica si manifesta con artriti periferiche e assiali, entesiti, dattiliti, psoriasi cutanea e ungueale, lombalgia infiammatoria e caratteristiche extra-articolari come le uveiti e le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) (37).

Da un punto di vista cardio-metabolico, l'artrite psoriasica si associa a un aumento del rischio di obesità, diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemie e malattie cardiovascolari rispetto sia ai pazienti affetti da psoriasi sine artrite, sia ai controlli sani (274,275).

La relazione tra obesità e artrite psoriasica è complessa e bidirezionale. Alcuni studi hanno dimostrato come l'obesità sia un fattore di rischio per lo sviluppo di artrite psoriasica, in quanto l'aumento del carico ponderale sugli arti inferiori può determinare la comparsa di microtraumi che possono portare sia allo sviluppo di artrosi, sia all'instaurarsi di processi infiammatori cronici articolari. Altri studi hanno suggerito come l'obesità possa essere una conseguenza dell'artrite psoriasica, dal momento che il paziente con infiammazione cronica e disfunzione

articolare è meno incline all'attività fisica (276). Il rischio relativo di artrite psoriasica aumenta da 1,57 a 3,12 volte nei pazienti con BMI compreso tra 30 e 34,9 kg/m<sup>2</sup> e da 1,96 a 6,46 volte per i BMI maggiori a 35 kg/ m<sup>2</sup> (277).

Sia l'obesità che l'artrite psoriasica sono caratterizzate da aumenti delle concentrazioni ematiche di IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 e IL-22 (278). Da un punto di vista endocrinologico nella psoriasi e nell'artrite psoriasica si ha un aumento dei livelli circolanti di leptina e resistina. Esse vanno a promuovere l'ulteriore rilascio di TNF $\alpha$  e CXCL8 (279). La leptina correla anche con l'aumento degli score di severità dell'artrite psoriasica e delle concentrazioni dei mediatori solubili di osteoclastogenesi (280). L'aumento delle concentrazioni di visfatina correla invece con l'aumento del rischio cardiovascolare nel paziente psoriasico o artritico (281). Resta da chiarire il ruolo dell'adiponectina (282).

L'obesità impatta sull'efficacia e la sicurezza dei trattamenti farmacologici dell'artrite psoriasica: il metotrexate e la ciclosporina aumentano la rispettiva tossicità epatica e renale (283,284). Nei pazienti psoriasici con peso superiore ai 100 kg si ha una diminuzione dell'efficacia di Ustekinumab, un anticorpo monoclonale anti-IL-12 e anti-IL-23 (285).

In conclusione, vi sono forti evidenze che suggeriscono come l'obesità, attraverso la sua azione pro-infiammatoria, predisponga allo sviluppo di psoriasi e artrite psoriasica, aggravi la prognosi di entrambe le patologie, aumenti il rischio cardiovascolare e le comorbidità metaboliche e riduca l'efficacia dei farmaci biotecnologici (235).

#### **1.6.3.4 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ E MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI**

Il morbo di Crohn e la rettocolite ulcerosa sono le principali forme di malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) nella popolazione generale. Le MICI sono un gruppo di malattie infiammatorie croniche e idiopatiche che colpiscono il tubo digerente e sono caratterizzate da un decorso relapsing-remitting e lo sviluppo di numerose complicanze gastro-intestinali e sistemiche. Non se ne conosce la precisa eziologia, tuttavia una genetica predisponente e un microbiota alterato contribuiscono all'insorgenza del processo flogistico (286). Dal momento

che le curve di incidenza di MICI e obesità mostrano un progressivo incremento di casi negli ultimi decenni, è opportuno studiare un'eventuale correlazione tra le due patologie.

I conflitti esistenti tra diversi studi in letteratura non consentono di stabilire una correlazione tra obesità e sviluppo di malattie infiammatorie croniche intestinali (287,288), tuttavia, si conosce il ruolo del WAT mesenteriale nella patogenesi della malattia di Crohn e la sua estensione correla con la severità dell'infiammazione (289).

Diversi studi riportano una correlazione tra i livelli di alcune adipochine e la severità dell'infiammazione nelle MICI, in particolare si è osservato un aumento di resistina (290), visfatina(291) e leptina. Livelli aumentati di leptina non si sono riscontrati solamente nel plasma, ma anche nel WAT mesenteriale e nel lume intestinale (292–295).

In conclusione, è ancora dibattuto il ruolo dell'obesità come fattore di rischio indipendente per le MICI, tuttavia dati sperimentali e fisiopatologici provano come il WAT mesenteriale giochi un ruolo fondamentale nella loro patogenesi.

#### **1.6.3.5 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ E SCLEROSI MULTIPLA**

La sclerosi multipla (MS) è la più comune malattia infiammatoria cronica demielinizzante del SNC. È istologicamente caratterizzata da aree di infiammazione localizzata, demielinizzazione, perdita assonale e gliosi nell'encefalo e nel midollo spinale. Si manifesta con una grande variabilità di sintomi neurologici sensitivi, motori e cognitivi disseminati nello spazio e nel tempo. Sebbene la causa sia sconosciuta, viene ipotizzato il coinvolgimento di fattori genetici, ambientali e immunologici (37).

Diversi studi hanno suggerito come l'obesità in età pediatrica sia un fattore di rischio per l'insorgenza di MS (296). Uno in particolare ha riportato il raddoppiamento del rischio di sviluppare MS nei soggetti con BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> all'età di 20 anni (297). Una possibile spiegazione potrebbe stare nel fatto che i soggetti obesi, inclusi i bambini obesi, presentano minori concentrazioni di vitamina D (298), ormone che sembra ridurre la progressione di MS nei modelli animali (299). Importante è poi la somiglianza dello spettro adipochinico presente

nei soggetti con MS con quello dei soggetti obesi: l'adiponectina diminuisce, mentre la leptina, la resistina e la visfatina aumentano. Questo profilo ormonale si associa anche a un aumento di PCR, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e alla riduzione dei linfociti Treg (300). Topi affetti da encefalomielite autoimmune e sottoposti a restrizione calorica miglioravano il quadro clinico e laboratoristico con aumento delle concentrazioni sieriche di adiponectina e diminuzione delle concentrazioni di leptina e IL-6 (301). Dimostrazioni del ruolo chiave della leptina vengono anche dall'osservazione che topi ob/ob cui viene somministrata leptina ricombinante vanno incontro ad uno shift dei linfociti Th2 in linfociti Th1 e all'aumento della secrezione di autoanticorpi diretti contro la mielina (302). Un altro studio sempre su modelli murini aveva mostrato come nelle lesioni demielinizzanti dell'encefalo e del midollo spinale si osservava un aumento della secrezione di leptina da parte dei macrofagi e dei linfociti T infiltranti (242). Anche a livello di liquido cefalorachidiano le concentrazioni di leptina sono aumentate, con aumento della produzione di IFN $\gamma$  (303). Tutti questi studi rimarcano il ruolo rilevante della leptina nella patogenesi della sclerosi multipla.

Per concludere, vi è una forte evidenza che lega l'obesità all'aumento del rischio di sviluppare sclerosi multipla. I meccanismi sono complessi, ma molto probabilmente coinvolgono alterazioni nella concentrazione delle adipochine che promuovono l'aumento dei linfociti Th1 e la riduzione dei linfociti Treg (235).

#### **1.6.3.6 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ E DIABETE MELLITO DI TIPO 1**

Il diabete mellito di tipo 1 (DM1) è una malattia autoimmune del pancreas endocrino caratterizzata dalla distruzione delle cellule- $\beta$  secernenti insulina, con conseguente insulino-deficienza e iperglicemia. Gli autoanticorpi associati con DM1 sono gli anti-IC (Islet Cells), gli anti-GAD (Decarbossilasi dell'Acido Glutammico), gli anti-IA2 (Associati all'Insulinoma, di tipo 2), gli anti-IA (anti-insulina) e gli anti-ZnT8A (trasportatore dello zinco di tipo 8) (37).

Dal momento che sia l'obesità che il DM1 sono andati incontro a un parallelo aumento dei casi negli ultimi decenni, si è supposta un'associazione tra le due patologie e ci si è chiesti se l'obesità contribuisca a guidare il processo autoimmune del DM1 e con che meccanismo. I risultati ottenuti non sono

uniformi. Si è trovata un'associazione tra aumento del peso alla nascita e rischio di sviluppare DM1 in età pediatrica (304), mentre, nei modelli murini, la restrizione calorica della madre durante la gravidanza riduce il rischio della prole di sviluppare DM1 a 24 settimane (305). Vi è anche un'associazione tra obesità pediatrica e aumento del rischio di DM1, con un odds ratio di 2,03 (306). In realtà al giorno d'oggi non si sa ancora del tutto se “incremento del peso alla nascita” e “obesità pediatrica” costituiscano dei fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di DM1 o se siano degli acceleratori che conducono ad una presentazione precoce della malattia che si sarebbe sviluppata più tardi in soggetti geneticamente predisposti. L'obesità potrebbe limitarsi ad abbassare l'età di insorgenza di DM1 senza aumentarne effettivamente il rischio (307).

Per quanto riguarda le adipochine, la leptina può essere trovata sia aumentata, sia in range, sia diminuita nei soggetti affetti da DM1(308–310), mentre l'adiponectina aumenta come tentativo di compenso all'iperglicemia (si ricordi che è un ormone insulino-sensibilizzante) (311). Anche la resistina si trova aumentata e si suppone possa essere coinvolta nella patogenesi del DM1(312). Interessante è l'impatto delle adipochine sulla distruzione autoimmune delle  $\beta$ -cellule, in quanto l'adiponectina sembra avere un effetto protettivo (313), mentre la leptina accelererebbe la distruzione nei modelli murini (314).

In conclusione, un'estesa letteratura sostiene che l'obesità in età pediatrica raddoppia il rischio di diabete mellito di tipo 1, tuttavia resta da chiarire se questo effetto dipenda da un effettivo aumento del rischio oppure da un'accelerazione della comparsa della malattia. (235)

### **1.6.3.7 OBESITÀ, AUTOIMMUNITÀ E TIROIDITI AUTOIMMUNI**

Le tireopatie autoimmuni sono uno spettro di patologie caratterizzato da un attacco autoimmune alla ghiandola tiroide e comprendono la tiroidite di Hashimoto, il morbo di Graves e la tiroidite post-partum. Ci si concentrerà sulla tiroidite di Hashimoto in quanto non vi sono dati a sufficienza sulla relazione tra obesità, morbo di Graves e tiroidite post-partum (235).

La tiroidite di Hashimoto viene anche chiamata tiroidite autoimmune cronica o ipotiroidismo autoimmune ed è la più comune tra le malattie autoimmuni, il più

comune disturbo endocrino e la causa più frequente di ipotiroidismo. È una malattia autoimmune organo-specifica caratterizzata dalla presenza di gozzo, infiltrato linfocitario, autoanticorpi sierici anti-TPO (anti-tireoperossidasi) e anti-Tg (anti-tireoglobulina) e manifestazioni sistemiche correlate a ipotiroidismo(315).

La funzione tiroidea è stata largamente studiata nei soggetti obesi e si è osservato un aumento delle concentrazioni di TSH all'aumentare del BMI(316). Tuttavia questa elevazione non sempre correla con la presenza di ipotiroidismo, dal momento che gli ormoni tiroidei periferici (T3 e T4) possono essere aumentati, in range di normalità o ridotti(317). Per finire l'ipertireotropinemia sembra essere una conseguenza dell'obesità piuttosto che una sua causa(318). Potrebbe essere un tentativo dell'ipotalamo e dell'ipofisi di stimolare l'aumento del metabolismo basale come compenso all'aumento ponderale(318). Un'altra ipotesi è che sia l'iperleptinemia stessa a indurre la secrezione di TSH(319).

Alcuni studi hanno suggerito come i soggetti obesi siano predisposti a sviluppare tiroiditi di Hashimoto: si noterebbe un aumento di autoanticorpi specifici e ipotiroidismo correlati all'aumento delle concentrazioni ematiche di leptina(320), ma sono necessari ulteriori studi per approfondire l'eventuale relazione.

In conclusione, oggi si sa come variazioni degli ormoni tiroidei nell'obesità sono prevalentemente correlate a una deregolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi senza la presenza di processi autoimmuni sottostanti. Questo non esclude che l'obesità possa aumentare il rischio di tiroiditi autoimmuni con un ruolo centrale della leptina all'interno del processo. Ulteriori studi potrebbero aiutare ad approfondire la questione(235).

## **1.7 RUOLO DEGLI AUTOANTICORPI ANTI-AT1R E ANTI-ETAR NELLA PATOGENESI DELLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI**

Fino ad ora si è visto come le complicanze dell'obesità siano mediate dall'azione sistemica di citochine pro-infiammatorie, ormoni secreti dal WAT ipertrofico e infiammato, e da mediatori autonomici simpatici. Tuttavia, non tutte le complicanze dell'obesità trovano risposta esaminando esclusivamente il ruolo del sistema immunitario innato. Data la presenza di una correlazione tra obesità e autoimmunità, è opportuno domandarsi se e come il sistema immunitario adattativo possa contribuire alla patogenesi delle complicanze dell'obesità. In particolare, è auspicabile andare ad indagare l'eventuale ruolo che alcuni autoanticorpi, implicati nella patogenesi di svariate patologie cardiovascolari, potrebbero avere nelle complicanze cardiovascolari dell'obesità, e in particolare nelle microangiopatie dell'obeso. Tra i possibili mediatori da prendere in considerazione per tale indagine vi sono gli autoanticorpi anti-AT1R (AT1R-AA) e anti-ETAR (ETAR-AA), anticorpi agonisti dei recettori di tipo 1 dell'angiotensina e di tipo A dell'endotelina, e perciò definiti funzionali.

### **1.7.1 ANGIOTENSINA II E ENDOTELINA-1: RECETTORI E AZIONI FISILOGICHE**

L'angiotensina II è l'effettore finale del sistema renina-angiotensina-aldosterone ed esercita la propria funzione mediante il legame con i recettori AT1 e AT2. Ne conseguono un aumento del tono simpatico, il rilascio di vasopressina e la secrezione di aldosterone(321). AT1R è un recettore a sette eliche transmembrana accoppiato a proteine G (GPCR) espresso nel fegato, nell'encefalo, nel cuore, nei vasi sanguigni e nei polmoni. Gli effetti dell'angiotensina II su questi organi includono l'induzione di infiammazione, vasocostrizione, fibrosi, perossidazione lipidica, disfunzione endoteliale, espressione di molecole d'adesione e ipertrofia dei cardiomiociti(322). Numerosi polimorfismi del gene AT1R sono associati all'aumento del rischio di ipertensione arteriosa(323), sindromi coronariche e infarto miocardico acuto(324), vista l'alta espressione del recettore nelle cellule

muscolari lisce vasali, nelle cellule endoteliali e nei cardiomiociti. Visti gli effetti generati da AT1R, la sua stimolazione cronica comporta una risposta a feedback negativo con downregolazione recettoriale. La stimolazione di AT2R presenta invece un effetto antiproliferativo, pro-apoptotico (325) e riduce la fibrosi nei modelli preclinici e in vivo (326).

L'endotelina-1 (ET-1) è un ormone prodotto dall'endotelio partendo dalla pre-pro-endotelina-1. Presenta due recettori GPCR, il recettore dell'endotelina di tipo A (ETAR) e il recettore dell'endotelina di tipo B (ETBR), che oltre a endotelina-1 possono legare anche endotelina-2 ed endotelina-3. ETAR è altamente espresso dalle cellule muscolari lisce vascolari e ne induce la contrazione e la proliferazione. ETBR induce invece la produzione di NO con vasodilatazione e favorisce la clearance di endotelina-1 dal circolo sanguigno (327). ET-1 è implicata nella patogenesi di diverse malattie cardiovascolari. Aumenta nelle prime ore dopo un IMA modificando la risposta del microcircolo alla riperfusione e peggiorandone l'outcome. Gioca un ruolo fondamentale anche nella patogenesi dell'ipertensione polmonare dove i suoi livelli correlano con la gravità della patologia e gli antagonisti di ETAR sono usati come farmaci di prima linea (328). ETBR è espresso principalmente dalle cellule endoteliali e induce la secrezione di NO, natriuresi e diuresi con conseguente abbassamento della pressione sanguigna.

I livelli di AT1R e ETAR sono influenzati da fattori genetici e ambientali. L'incremento o il decremento della loro espressione può risultare in un cambiamento del pattern di attivazione con distruzione della normale omeostasi tissutale. Alcune varianti alleliche di AT1R sono state associate a un aumento del rischio di ipertensione arteriosa (329). Un microambiente infiammato, mediante l'azione di IL-6, induce l'aumento dell'espressione di AT1R e dello stress ossidativo con conseguente danno endoteliale (330). Lo stesso dicasi per ETAR che, se aumentato nell'espressione, favorisce la distruzione della membrana basale endoteliale (331).

### **1.7.2 AUTOANTICORPI ANTI-AT1R E ANTI-ETAR: FORMAZIONE E FISIOPATOLOGIA**

L'aumentata espressione di AT1R e ETAR causata da polimorfismi genetici o stimoli ambientali può generare un eccesso di target ai quali possono legarsi eventuali autoanticorpi circolanti. Questo fatto potrebbe contribuire allo sviluppo di patologie autoimmuni osservato in pazienti che presentano elevati livelli di autoanticorpi anti-AT1R (AT1R-AA) e anti-ETAR (ETAR-AA) (329).

AT1R-AA e ETAR-AA sono degli autoanticorpi funzionali, o agonisti, in quanto attivano i recettori AT1R e ETAR, similmente a quanto fatto dai ligandi endogeni angiotensina II ed endotelina-1. Il loro aumento è stato correlato con numerose patologie, ma molti studi si sono concentrati sul ruolo nel rigetto degli organi trapiantati. In questo ambito si è proposto che la loro formazione potrebbe avvenire in seguito a un danno dell'endotelio dell'organo trapiantato o del ricevente con conseguente shedding della porzione extracellulare di AT1R e ETAR. Il danno endoteliale avverrebbe in un ambiente infiammato e in presenza di stress ossidativo, con aumento della fagocitosi e un'alterata presentazione degli antigeni self da parte delle APC (Antigen Presenting Cells). Tali antigeni andrebbero incontro a modificazioni post-traduzionali venendo interpretati come "neoantigeni" contro i quali viene montata una risposta immunitaria con produzione di AT1R-AA e ETAR-AA (329).

Da un punto di vista funzionale, una volta legati ai loro recettori, gli autoanticorpi attivano la pathway di ERK inducendo vasocostrizione, rimodellamento della matrice extra-cellulare e attivazione della risposta infiammatoria. Inoltre, mentre l'attivazione di AT1R e ETAR da parte di angiotensina II ed endotelina-1 è transitoria e dotata di un meccanismo a feedback negativo dato dall'attivazione di AT2R e ETBR, AT1R-AA e ETAR-AA inducono un'attivazione sostenuta e prolungata nel tempo di AT1R e ETAR senza l'attivazione compensatoria di AT2R e ETBR. Di conseguenza la vasocostrizione indotta da AT1R-AA è mantenuta 10 volte più a lungo di quella indotta da angiotensina II con aumento della pressione arteriosa(329). AT1R-AA e ETAR-AA sono anche associati allo sviluppo di fibrosi. Per esempio, a livello epatico, le cellule stellate di Ito si attivano inizialmente sotto la stimolazione di AT1R-AA, mentre nelle fasi successive e nella progressione della fibrotizzazione prevale l'azione degli ETAR-AA(332). AT1R-AA e ETAR-AA potrebbero causare danno tissutale anche favorendo la migrazione di cellule immunitarie nei tessuti target. Alcuni studi in

in vitro hanno mostrato il loro ruolo nell'attivazione delle cellule endoteliali con aumento della secrezione di IL-8, richiamo dei neutrofili e produzione di collagene di tipo 1 da parte dei fibroblasti (333). Anche i linfociti T esprimono AT1R e il suo legame da parte di AT1R-AA induce il richiamo dei linfociti nel sito di infezione (334). ETAR-AA gioca invece un ruolo nella migrazione dei neutrofili. Per finire, dal momento che AT1R-AA e ETAR-AA sono delle immunoglobuline di classe G (IgG<sub>1</sub> o IgG<sub>3</sub>), possono legarsi con alta affinità alle proteine della cascata del complemento e indurre la loro attivazione con reazione di ipersensibilità di tipo 2 e danno d'organo (329). La Figura 29 riassume i possibili effetti fisiologici e fisiopatologici causati a livello sistemico da AT1R-AA e ETAR-AA.

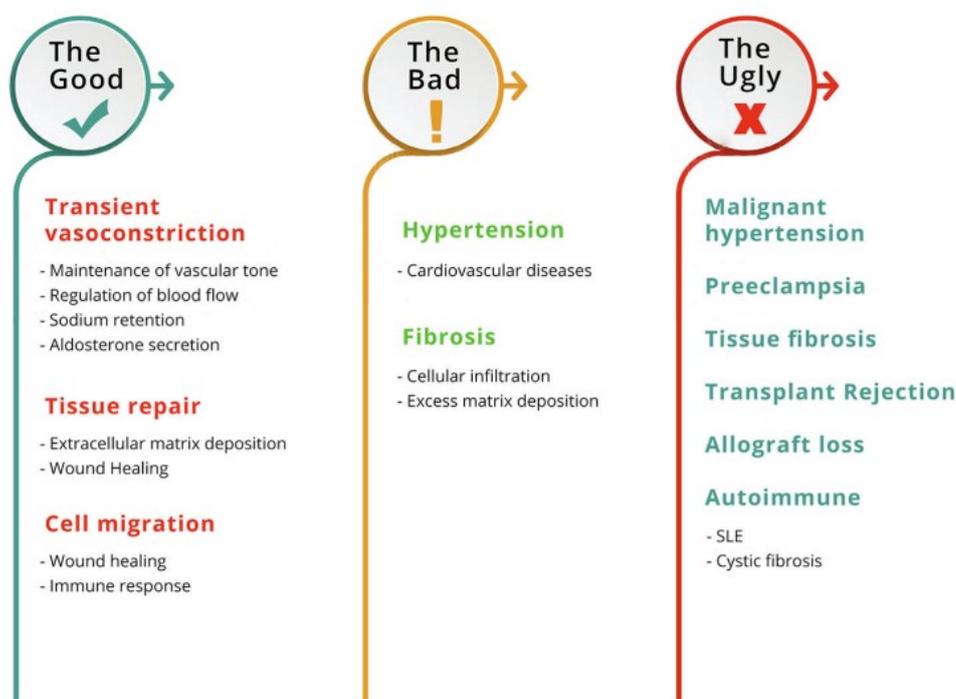


Figura 29: Effetti fisiologici e patologici causati da AT1R-AA e ETAR-AA nell'organismo umano. "SLE" sta per "Lupus Eritematoso Sistemico". Immagine modificata da Philogene et al. (329).

### 1.7.3 AT1R-AA E ETAR-AA, MALATTIE CARDIOVASCOLARI E POLMONARI

Gli AT1R-AA e gli ETAR-AA possono essere presenti anche nei soggetti sani, tuttavia, è ben descritto il loro ruolo nel rigetto d'organo trapiantato e nella patogenesi di diverse patologie cardio-vascolari e polmonari, suggerendo una

forte correlazione tra presenza di auto-anticorpi, infiammazione e alterazione della funzione microvascolare (329).

#### **1.7.3.1 AT1R-AA, ETAR-AA E RIGETTO NEL TRAPIANTO DI CUORE**

Il ruolo di AT1R-AA e ETAR-AA è stato indagato nel trapianto di cuore e si è visto come, diversamente dai pazienti che non vanno incontro a rigetto, i loro titoli sono aumentati nei pazienti che vanno incontro a rigetto acuto cellulare o anticorpo-mediato. Alcuni studi biotipici hanno messo in luce la presenza di microangiopatia coronarica e epicardica nei soggetti con aumento degli autoanticorpi e rigetto (335).

#### **1.7.3.2 AT1R-AA, ETAR-AA E RIGETTO NEL TRAPIANTO DI POLMONE**

Nel trapianto di polmone AT1R-AA e ETAR-AA sono implicati nel rigetto mediato da autoanticorpi (336).

#### **1.7.3.3 AT1R-AA, ETAR-AA E RIGETTO NEL TRAPIANTO DI RENE**

Nel trapianto di rene AT1R-AA è implicato nella patogenesi del rigetto vascolare (inducendo lo sviluppo di capillariti peritubulari e glomeruliti) e insieme a ETAR-AA agisce recando danno diretto all'organo trapiantato, probabilmente alterando i meccanismi di riparazione endoteliale (337).

#### **1.7.3.4 AT1R-AA, ETAR-AA E RIGETTO NEL TRAPIANTO DI FEGATO**

Nel trapianto di fegato AT1R-AA e ETAR-AA aumentano il rischio di morte, rigetto e progressione della fibrosi nell'organo ricevuto (338).

#### **1.7.3.5 AT1R-AA, ETAR-AA E DANNO ENDOTELIALE NEL MECHANICAL CIRCULATORY SUPPORT (MCS)**

I dispositivi MCS sono dei dispositivi meccanici artificiali atti a sostituire il cuore, parzialmente o totalmente, nelle sue funzioni di pompa. Il loro impiego trova indicazione nei casi di scompenso cardiaco a rapida progressione non responsivo a terapia medica o contro-pulsatore aortico. Un esempio di MCS è l'ECMO. Alcuni studi sono andati ad indagare la concentrazione di AT1R-AA prima e dopo posizionamento di MCS osservandone un aumento significativo in seguito

all'impianto. Presumibilmente lo shear stress causato dai dispositivi a livello endoteliale genera neoantigeni che stimolano la produzione di autoanticorpi(339). L'elevazione di AT1R-AA nei pazienti trattati con MCS si associa a una riduzione della sopravvivenza a 18 mesi (340).

#### **1.7.3.6 AT1R-AA, ETAR-AA E SINDROME CORONARICA ACUTA**

Alcuni studi hanno mostrato un aumento delle concentrazioni di AT1R-AA nei pazienti affetti da sindromi coronariche acute rispetto a quelli con angina da sforzo stabile o ai controlli sani. Gli AT1R-AAs andrebbero a promuovere lo sviluppo di aterosclerosi, rottura della placca e sindrome coronarica acuta inducendo un quadro di infiammazione vascolare, infatti AT1R-AA promuove la risposta infiammatoria attraverso l'aumento dell'espressione di IL-6, VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), e del fattore di trascrizione pro-infiammatorio NFkB (341).

#### **1.7.3.7 AT1R-AA, ETAR-AA E RESTENOSI DOPO ANGIOPLASTICA**

AT1R-AA può stimolare la proliferazione delle cellule muscolari lisce vascolari (VSMC), l'iperplasia della neo-intima e la restenosi degli stent impiantati come terapia di una sindrome coronarica acuta. In un gruppo di pazienti con angina instabile, la concentrazione di AT1R-AA era più alta rispetto ai controlli sani e aumentava ulteriormente dopo l'impianto di stent coronarici (342). L'autoanticorpo promuoveva la proliferazione delle VSMC, ma non si è trovata alcuna risposta sui motivi dell'aumento di concentrazione in seguito all'impianto.

#### **1.7.3.8 AT1R-AA, ETAR-AA E PRE-ECLAMPSIA**

La pre-eclampsia è una malattia sistemica della donna gravida caratterizzata dalla comparsa di ipertensione, proteinuria e disfunzione endoteliale (37). Per molto tempo si è sospettato il ruolo del RAAS nella patogenesi della malattia, tuttavia, i livelli circolanti di angiotensina II si presentavano normali(343). La svolta fu data dal riscontro di un aumento di AT1R-AAs nella quasi totalità delle donne affette da pre-eclampsia che, a causa dell'autoanticorpo, sviluppavano uno stato pro-coagulativo attraverso l'incremento della secrezione di fattore tissutale (TF) e stress ossidativo (344). Il ruolo patogenetico di AT1R-AA è stato confermato con

modelli murini e si è concluso che la pre-eclampsia è una malattia autoimmune indotta dalla gravidanza (345). In circa la metà delle donne eclamptiche si è visto anche un aumento delle concentrazioni ematiche degli ETAR-AAs associati a comparsa precoce e maggiore severità della patologia.

#### **1.7.3.9 AT1R-AA, ETAR-AA E IPERTENSIONE ARTERIOSA SISTEMICA**

Vista la centralità del RAAS nel controllo della pressione arteriosa, il ruolo degli autoanticorpi anti-AT1R nella fisiopatologia dell'ipertensione arteriosa è stato estesamente studiato. Concentrazioni aumentate di AT1R-AA correlano con l'elevazione dei valori pressori, l'aumentata incidenza di cadute e la mortalità (346). Aumenti di AT1R-AA sono stati osservati in soggetti affetti da ipertensione essenziale, ipertensione resistente e ipertensione maligna, suggerendo il loro possibile coinvolgimento nella patogenesi delle malattie (347).

#### **1.7.3.10 AT1R-AA, ETAR-AA E IPERALDOSTERONISMO PRIMARIO**

Dal momento che possono stimolare la secrezione di aldosterone e indurre l'iperplasia della zona glomerulare surrenalica, gli AT1R-AAs sono stati indagati anche in pazienti affetti da iperaldosteronismo primario (PA). I pazienti con PA avevano livelli di AT1R-AAs maggiori rispetto ai soggetti affetti da ipertensione essenziale, e tra i pazienti con PA quelli con adenoma di Conn-aldosterone secernente presentavano livelli maggiori rispetto a quelli con iperaldosteronismo idiopatico (348). Anche se non è ancora chiaro se l'aumento di AT1R-AAs sia causa o conseguenza di PA, si è visto come i loro livelli non si normalizzano dopo il trattamento dell'iperaldosteronismo (349).

#### **1.7.3.11 AT1R-AA, ETAR-AA E SCLEROSI SISTEMICA**

La sclerosi sistemica è una malattia sistemica caratterizzata da flogosi cronica autoimmune, microangiopatia diffusa e fibrosi interstiziale e perivasale progressiva della cute e degli organi interni (37). Nella SSc livelli aumentati di AT1R-AA e ETAR-AA sono associati con manifestazioni più severe e predicono la mortalità della malattia. Queste osservazioni potrebbero essere spiegate dagli effetti vasocostrittori e pro-fibrotici di AT1R-AA e ETAR-AA (350).

### **1.7.3.12 AT1R-AA, ETAR-AA E IPERTENSIONE ARTERIOSA POLMONARE (PAH)**

L'ipertensione polmonare è una patologia caratterizzata da una pressione arteriosa polmonare media maggiore o uguale a 25 mmHg a riposo. L'ipertensione polmonare arteriosa è caratterizzata dall'ipertrofia della tonaca media delle piccole arterie muscolari polmonari (37). A volte può essere secondaria al coinvolgimento dei vasi polmonari da parte della sclerosi sistemica. Livelli aumentati di AT1R-AA e ETAR-AA nei pazienti affetti da SSc predicono lo sviluppo di PAH, suggerendo la capacità degli autoanticorpi di causare un aumento della reattività endoteliale e una microangiopatia polmonare (333).

### **1.7.3.13 AT1R-AA, ETAR-AA E FIBROSI CISTICA**

Nella fibrosi cistica end stage è possibile riscontrare la presenza di AT1R-AA e ETAR-AA che probabilmente si sviluppano in seguito ai danni endoteliali causati dalla flogosi cronica e dalla risposta immunitaria deregolata (351).

### **1.7.3.14 AT1R-AA, ETAR-AA E SINDROME DA DISTRESS RESPIRATORIO ACUTO (ARDS) IN PAZIENTI AFFETTI DA COVID-19**

È stato riscontrato un aumento dei titoli di AT1R-AA e ETAR-AA in pazienti affetti da COVID-19 con decorso di patologia sfavorevole e sviluppo di ARDS. Questo fatto sottolinea il coinvolgimento di tali autoanticorpi nella disfunzione endoteliale coinvolta nella progressione della patologia (352).

### **1.7.3.15 CONCLUSIONI SUL RUOLO DI AT1R-AA, ETAR-AA NELLE MALATTIE CARDIO-POLMONARI**

La Figura 30 riassume graficamente le diverse patologie cui può essere associato l'aumento degli anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR.

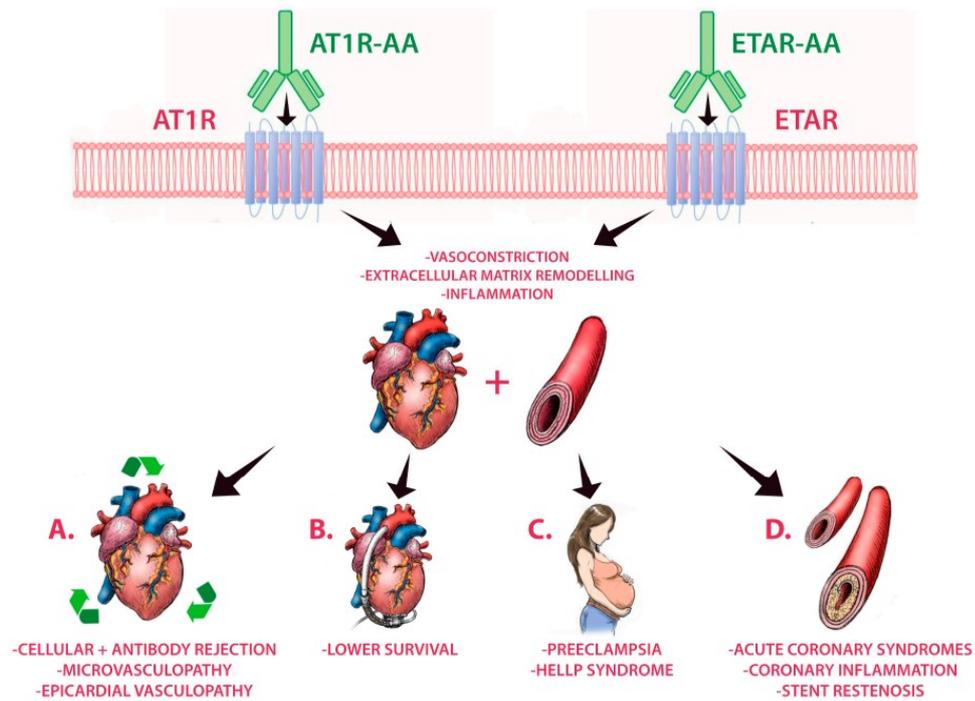


Figura 30: Patologie associate all'aumento degli anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR. Immagine tratta da Civieri et al.(321).

Alla luce di quanto detto, visti gli effetti vasocostrittori e pro-infiammatori sistemici, è possibile ipotizzare il coinvolgimento degli autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR nella patogenesi di altre patologie cardio-vascolari e polmonari tra cui la fibrillazione atriale, lo scompenso cardiaco a frazione di eiezione preservata (HFpEF), la microangiopatia coronarica e l'ipertensione arteriosa polmonare non secondaria a sclerosi sistemica. Tuttavia, al momento le evidenze sono scarse e sono necessari nuovi studi per colmare questo gap conoscitivo (321).



## **CAPITOLO 2: SCOPO DELLO STUDIO**

Alla luce del possibile ruolo fisiopatologico degli autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 nello sviluppo di complicanze cardiovascolari, ci siamo prefissati l'obiettivo di valutare il possibile coinvolgimento di questi autoanticorpi nell'obesità.

Abbiamo pertanto determinato le concentrazioni di autoanticorpi in una popolazione di pazienti affetta da obesità severa confrontandola con un gruppo di controllo. Abbiamo poi valutato il possibile effetto del calo ponderale sulle concentrazioni degli stessi.

Infine, abbiamo valutato una eventuale correlazione degli stessi con parametri del test cardiopolmonare in una sottopopolazione di pazienti.



## **CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI**

### **3.1 RECLUTAMENTO DEI PAZIENTI**

Il nostro studio ha incluso 29 pazienti (13 donne e 16 uomini) con obesità grave afferiti alla nostra Unità Bariatrica dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova. Ogni paziente è stato valutato prima e 12 mesi dopo essere stato sottoposto all'intervento di sleeve gastrectomy laparoscopica (LSG).

Sono stati considerati i parametri clinici generali (pressione arteriosa, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, saturazione di ossigeno nel sangue) e le misurazioni antropometriche (peso, altezza, BMI, circonferenza vita).

In tutti i pazienti considerati è stata eseguita una valutazione di laboratorio completa. Emocromo, glicemia a digiuno, test orale di tolleranza al glucosio con determinazione dei livelli plasmatici di insulina, profilo lipidico e transaminasi, sono stati determinati insieme alla concentrazione sierica di adipocitochine come la proteina C reattiva ad alta sensibilità (hsCRP), il fattore di necrosi tumorale- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), l'interleuchina 6 (IL-6) e la leptina.

Per la misurazione dei livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 abbiamo utilizzato un kit ELISA (CellTrend, Luckenwalde, DE), secondo le istruzioni del produttore, e 10 soggetti di peso normale sono stati utilizzati come gruppo di controllo. I campioni di sangue sono stati prelevati tra le ore 8 e 9 del mattino dopo un digiuno notturno.

### **3.2 TECNICA CHIRURGICA BARIATRICA**

Nel nostro Centro la LSG viene eseguita come procedura di chirurgia bariatrica di prima scelta. Tutti i pazienti sono stati operati dalla stessa équipe di chirurgia bariatrica quando indicato, secondo i criteri per la chirurgia bariatrica riportati dalle linee guida internazionali: BMI superiore a 35 kg/m<sup>2</sup> in presenza di comorbidità o BMI superiore a 40 kg/m<sup>2</sup>. I criteri di esclusione assoluta includevano dipendenza da alcol e gravi disturbi psichiatrici. Tutti i dettagli della tecnica chirurgica sono stati pubblicati di recente dal nostro gruppo.

### **3.3 TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE (CPET)**

Ogni paziente chirurgico è stato sottoposto come strumento di screening a CPET con ECG a 12 derivazioni (Jaeger Masterscreen-CPX, Carefusion). Prima di ogni singola valutazione è stata eseguita un'attenta calibrazione del sensore di flusso e degli analizzatori dei gas secondo le specifiche indicazioni del produttore. Dopo una prima fase di test a velocità costante, è stata eseguita la successiva parte incrementale del test da sforzo fino ad esaurimento. Lo scambio gassoso respiratorio ( $\text{VO}_2$ ,  $\text{VCO}_2$ ) e la ventilazione sono stati monitorati respiro per respiro durante l'intero test e almeno fino al quarto minuto di recupero. Il  $\text{VO}_2$  di picco ( $\text{VO}_2$  peak) è stato definito come il valore più alto di  $\text{VO}_2$  raggiunto in un intervallo di 30s al picco dell'esercizio. La slope ventilazione/ $\text{VCO}_2$  ( $\text{VE}/\text{VCO}_2$ ) è stata calcolata come coefficiente di regressione lineare ottenuto tracciando i dati  $\text{VE}$  e  $\text{VCO}_2$  dall'inizio dell'esercizio (rimuovendo l'eventuale iperventilazione iniziale) al punto di compensazione respiratoria.

### **3.4 ANALISI STATISTICA**

I risultati sono stati espressi come media  $\pm$  SD. I dati ottenuti prima e dopo il calo ponderale sono stati confrontati utilizzando il test "t di Student". Le correlazioni sono state eseguite con semplici analisi di regressione lineare e sono stati utilizzati coefficienti di correlazione di Spearman per valutare le correlazioni tra i livelli plasmatici degli autoanticorpi e altri parametri clinici e ormonali. Un valore  $p < 0,05$  è stato considerato statisticamente significativo. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software GraphPad PRISM (versione 9.5.1; GraphPad Software Inc., San Diego, California, US).

## CAPITOLO 4: RISULTATI

### 4.1 CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI AL BASALE E UN ANNO DOPO LA CHIRURGIA BARIATRICA

Alcune caratteristiche dei pazienti sono riportate nella Tabella IV. L'età media era 42 anni, mentre il BMI medio iniziale era 47 kg/m<sup>2</sup>. Per quanto riguarda le comorbidità, 12 pazienti erano affetti da ipertensione arteriosa, 6 pazienti erano affetti da diabete mellito di tipo 2.

Come previsto, 12 mesi dopo l'intervento bariatrico abbiamo osservato il miglioramento di diversi parametri (Tabella IV).

	Prima LSG	Dopo LSG	
Età media (yy)	42	-	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	47	31	$p \leq 0.05$
Waist (cm)	138	100	$p \leq 0.05$
Colesterolo totale (mg/dL)	170	160	<i>ns</i>
LDL (mg/dL)	97	91	<i>ns</i>
Trigliceridi (mg/dL)	186	76	$p \leq 0.001$
HOMA index	14	2	$p \leq 0.001$

Tabella IV: Parametri antropometrici ed ematochimici prima e dopo intervento di LSG.

Abbiamo osservato anche la significativa riduzione dei livelli sierici plasmatici di tutte le citochine considerate, come riportato nella Figura 31.

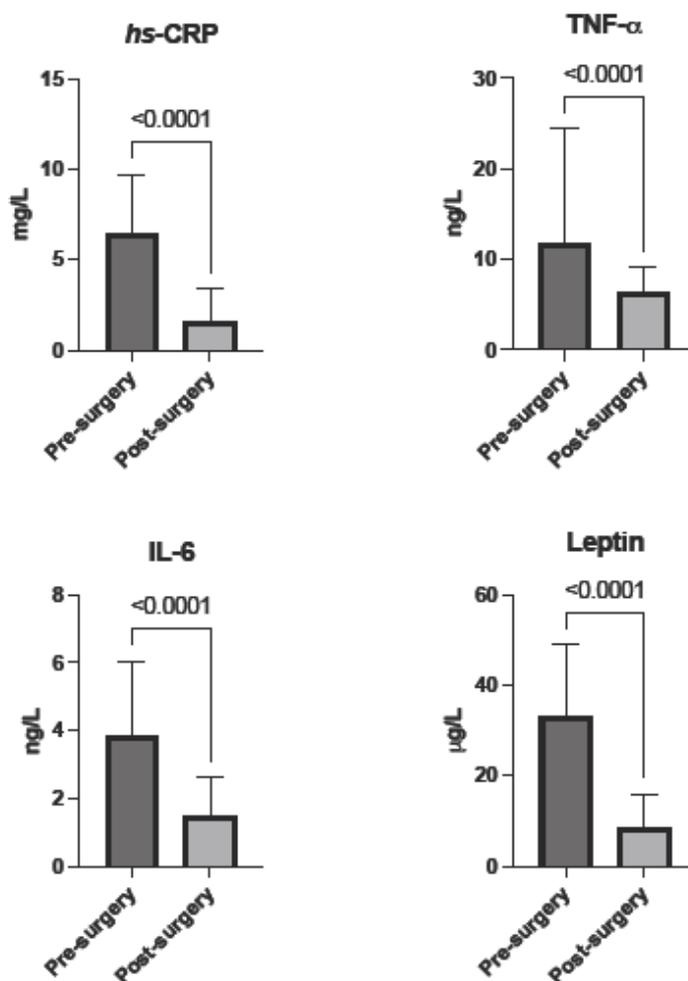


Figura 31: Concentrazioni plasmatiche delle adipochine sieriche hs-CRP, TNF $\alpha$ , IL-1 e leptina prima (pre-operatorio) e dopo l'intervento chirurgico (post-operatorio).

#### 4.2 LIVELLI PLASMATICI DI ANTICORPI ANTI-AT1R E ANTI-ETAR1 PRIMA E DOPO LA CHIRURGIA BARIATRICA

Al basale, sono state osservate diverse concentrazioni di autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 tra i pazienti normopeso e quelli con obesità. In particolare, gli anti-AT1R erano significativamente più alti nel gruppo dei pazienti rispetto al gruppo di controllo (Figura 32).

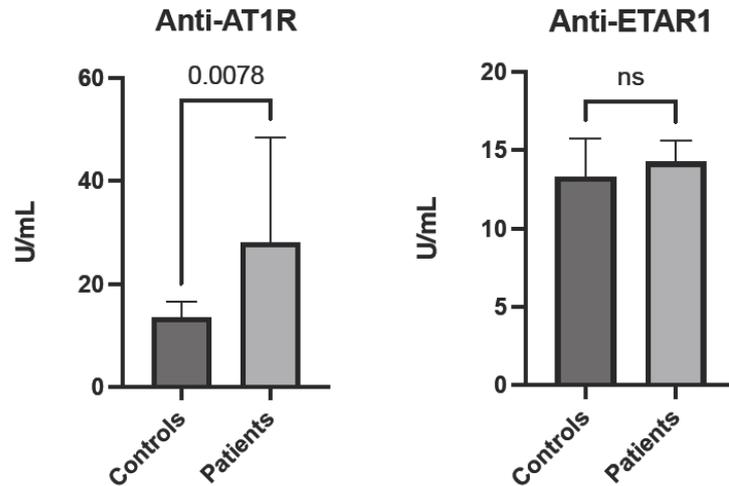


Figura 32: Concentrazioni plasmatiche di anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 in soggetti di peso normale (controlli) e pazienti con obesità (pazienti).

Dopo la chirurgia bariatrica, la concentrazione plasmatica di autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 era significativamente ridotta nei pazienti trattati (Figura 33).

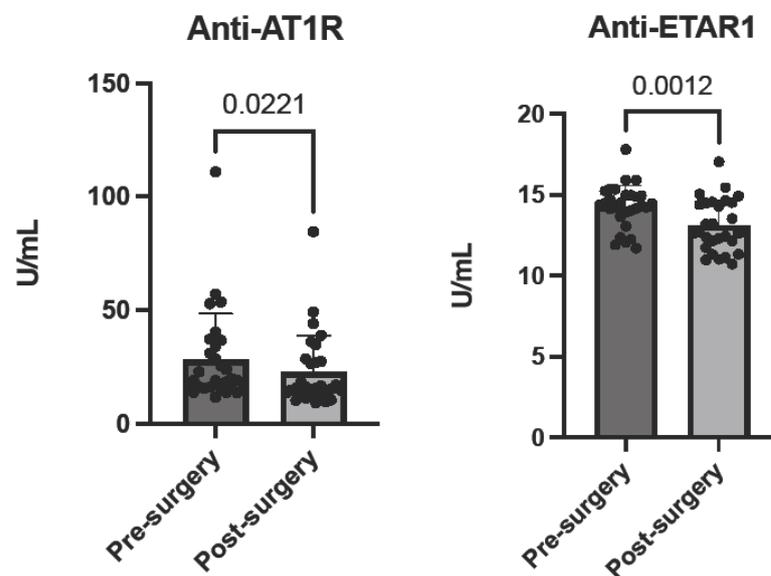


Figura 33: Concentrazioni plasmatiche di anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 prima (pre-operatorio) e dopo (post-operatorio) chirurgia bariatrica.

#### 4.3 RELAZIONE TRA LIVELLI PLASMATICI DI ANTICORPI ANTI-AT1R E ANTI-ETAR1 E ALTRI PARAMETRI

È stata osservata una significativa correlazione diretta tra i livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1 sia al basale che dopo l'intervento chirurgico (Figura 34), suggerendo un meccanismo condiviso per la loro sintesi e rilascio sistemico.

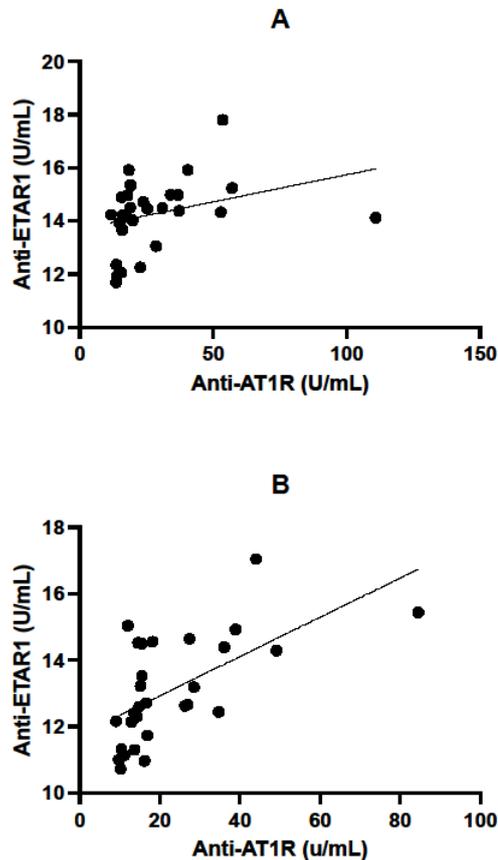


Figura 34: Relazione tra le concentrazioni plasmatiche di anticorpi anti-AT1R e anti-ETAR1. È stata osservata una correlazione diretta tra la concentrazione plasmatica dei due tipi di autoanticorpi sia al basale (pannello A:  $r=0.5$ ,  $p \leq 0.05$ ) che dopo il trattamento chirurgico (pannello B:  $r=0.6$ ,  $p \leq 0.05$ ).

Un'altra correlazione diretta interessante è stata osservata al basale tra i livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e le concentrazioni di transaminasi (Figura 35), suggerendo una possibile relazione tra la funzionalità epatica e la produzione di anticorpi anti-AT1R. Non sono invece state osservate correlazioni tra gli anti-ETAR1 e gli altri parametri considerati.

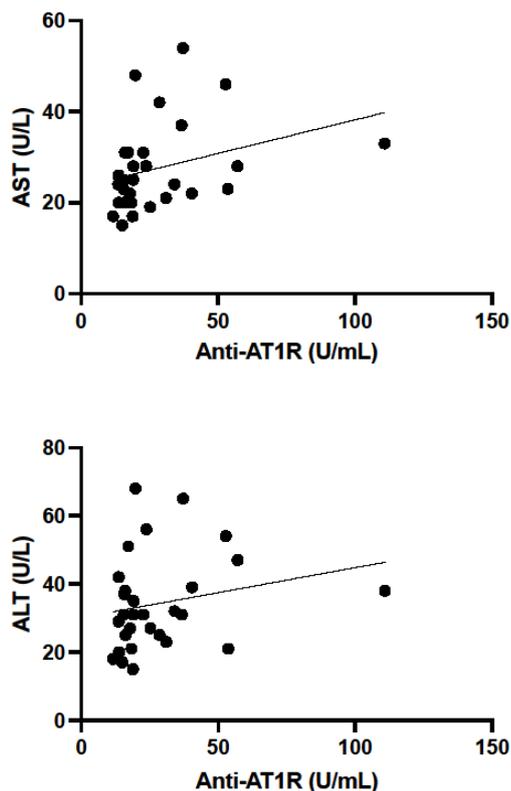


Figura 35: Relazione tra livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e concentrazioni di AST ( $r=0.6$ ,  $p \leq 0.01$ ) ed ALT ( $r=0.5$ ,  $p \leq 0.05$ ).

#### 2.4 RELAZIONE TRA LIVELLI PLASMATICI DI ANTICORPI ANTI-AT1R E PARAMETRI CPET

Nel valutare la possibile associazione dei livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R con i parametri funzionali del CPET, abbiamo osservato al basale una relazione non statisticamente significativa tra i livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e il  $VO_2$  di picco prima e dopo l'aggiustamento per i Kg di peso corporeo (Figura 36, pannelli superiori).

Tuttavia, è interessante notare che è stata osservata una relazione inversa tra il pulse  $O_2$  ( $VO_2$ /frequenza cardiaca, valori normali  $\geq 80\%$  del predetto) e i livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R. Inoltre, è stata osservata una relazione diretta tra i livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e il rapporto di scambio respiratorio (RER). Queste ultime correlazioni possono suggerire un coinvolgimento degli anticorpi anti-AT1R nella ridotta performance cardio-polmonare osservata nell'obesità (Figura 36).

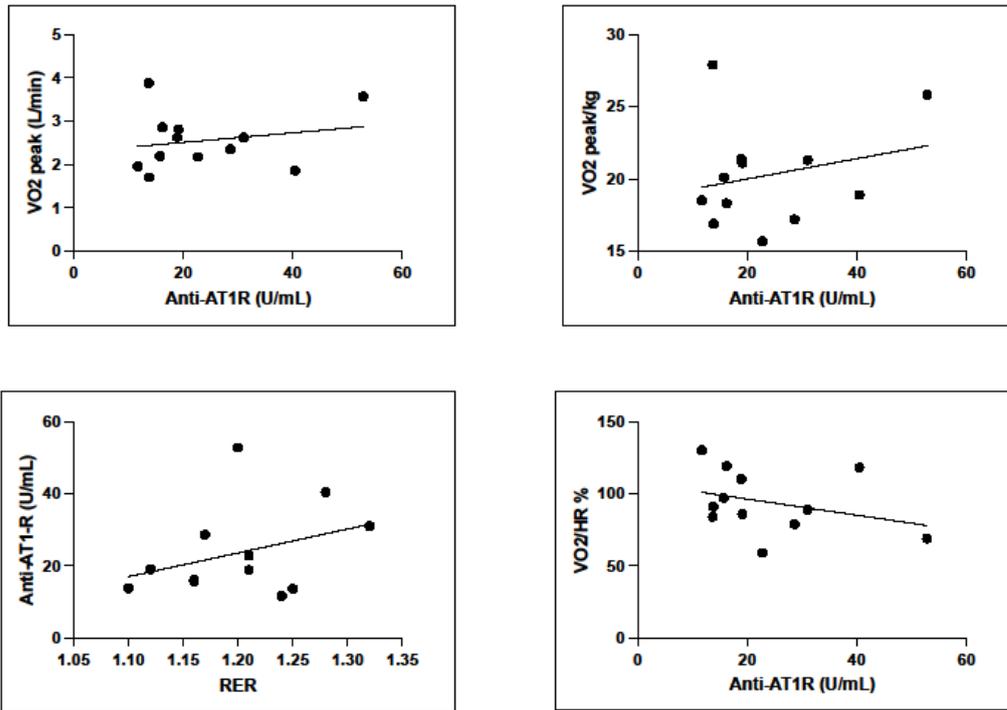


Figura 36: Relazione tra livelli plasmatici di anticorpi anti-AT1R e parametri CPET. Una correlazione diretta è stata osservata tra anti-AT1R e RER ( $r=0.5$ ,  $p\leq 0.05$ ), e una correlazione inversa è stata invece osservata tra anti-AT1R e  $VO_2/HR\%$  ( $r=-0.5$ ,  $p\leq 0.05$ ). La correlazione con il  $VO_2$  peak veniva persa dopo l'aggiustamento per il peso corporeo.

## CAPITOLO 5: DISCUSSIONE

L'obesità è una malattia ad alto impatto per il sistema sanitario pubblico a causa del carico di complicanze cliniche correlate. In particolare, l'obesità è associata allo sviluppo di malattie cardiovascolari (CVD) come l'infarto miocardico, l'insufficienza cardiaca a frazione di eiezione conservata (HFpEF) e l'ictus ischemico.

Le terapie che provocano una perdita di peso sostenibile nel lungo termine si sono mostrate efficaci nel ridurre il rischio di malattie cardiovascolari. In particolare, la chirurgia bariatrica ha mostrato benefici nella prevenzione delle CVD. Essi probabilmente non derivano soltanto dalla semplice perdita di peso, tuttavia i meccanismi responsabili non sono ancora del tutto chiariti.

Nello sviluppo delle complicanze cardiovascolari è stato ipotizzato, oltre a quello dell'infiammazione, il ruolo dell'autoimmunità. In particolare, in contesti diversi dall'obesità, si è valutato il ruolo degli autoanticorpi anti-AT1R e anti-ETAR, ma il loro contributo nello sviluppo delle CVD secondarie all'obesità non è ancora stato definito.

AT1R-AA e ETAR-AA sono degli anticorpi funzionali che, interagendo con i relativi recettori, promuovono la vasocostrizione, ma presentano anche effetti pro-infiammatori e pro-fibrotici. La loro presenza è associata allo sviluppo di ipertensione polmonare nella sclerosi sistemica. Nonostante siano così descritti in determinati contesti, sono limitati i dati in merito ad altre condizioni cliniche. Pur con tutte le limitazioni, in particolare la numerosità ridotta del campione, nel nostro studio abbiamo mostrato che nei soggetti con obesità le concentrazioni di questi autoanticorpi sono maggiori rispetto alla controparte normopeso e che, a seguito della chirurgia bariatrica, si osserva una riduzione dei loro valori rispetto al basale.

Alla luce degli effetti negativi mediati da tali anticorpi sul sistema cardiovascolare, è possibile ipotizzare un loro contributo nella genesi delle complicanze cardiovascolari nell'obesità. Inoltre, gli effetti della chirurgia fanno supporre che in il beneficio di questa possa in parte essere mediato dalla riduzione dei livelli circolanti di questi autoanticorpi.

Nel nostro studio abbiamo osservato anche una correlazione tra gli anti-AT1R e alcuni parametri funzionali alla CPET. Questo fatto potrebbe suggerire un coinvolgimento di tali autoanticorpi anche nell'alterazione della performance respiratoria, agendo in particolare sulla componente vascolare. Ciò corrobora la tesi secondo cui tali anticorpi giocano un ruolo fisiopatologico anche sulla disfunzione vascolare polmonare. Studi futuri sono necessari per confermare la bontà di tali osservazioni.

## **CAPITOLO 6: CONCLUSIONI**

Le complicanze cardiovascolari rappresentano le principali cause di morbidità e mortalità nei pazienti affetti da obesità. Tuttavia, i meccanismi responsabili del loro sviluppo rimangono poco noti.

Gli autoanticorpi diretti contro il recettore di tipo 1 dell'angiotensina 2 e contro il recettore di tipo A dell'endotelina-1 sono stati associati allo sviluppo di numerose malattie cardiovascolari, ed il loro ruolo patogenetico potrebbe essere considerato anche nell'ambito dell'obesità e delle complicanze vascolari ad essa correlate. La chirurgia bariatrica sembra promuovere una riduzione nella loro concentrazione, e tale fenomeno potrebbe rappresentare un possibile meccanismo alla base dei benefici osservati a seguito di tale procedura nei soggetti affetti da obesità.



## BIBLIOGRAFIA

1. Mechanick JI, Garber AJ, Handelsman Y, Garvey WT. American Association of Clinical Endocrinologists' position statement on obesity and obesity medicine. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol*. 2012;18(5):642–8.
2. Garvey WT. Is Obesity or Adiposity-Based Chronic Disease Curable: The Set Point Theory, the Environment, and Second-Generation Medications. *Endocr Pract*. febbraio 2022;28(2):214–22.
3. Averna M. Principi di obesiologia. Saronno: Pharma project group;
4. Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus MV. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metab*. gennaio 2018;27(1):68–83.
5. Ottaviani E, Malagoli D, Franceschi C. The evolution of the adipose tissue: a neglected enigma. *Gen Comp Endocrinol*. 1 ottobre 2011;174(1):1–4.
6. Chase HB, Montagna W, Malone JD. Changes in the skin in relation to the hair growth cycle. *Anat Rec*. maggio 1953;116(1):75–81.
7. Zhang L, Guerrero-Juarez CF, Hata T, Bapat SP, Ramos R, Plikus MV, et al. Innate immunity. Dermal adipocytes protect against invasive *Staphylococcus aureus* skin infection. *Science*. 2 gennaio 2015;347(6217):67–71.
8. Bahn RS. Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med*. 25 febbraio 2010;362(8):726–38.
9. Tan J, Buache E, Chenard MP, Dali-Youcef N, Rio MC. Adipocyte is a non-trivial, dynamic partner of breast cancer cells. *Int J Dev Biol*. 2011;55(7–9):851–9.
10. Ioan-Facsinay A, Kloppenburg M. An emerging player in knee osteoarthritis: the infrapatellar fat pad. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(6):225.
11. Fan Y, Hanai JI, Le PT, Bi R, Maridas D, DeMambro V, et al. Parathyroid Hormone Directs Bone Marrow Mesenchymal Cell Fate. *Cell Metab*. 7 marzo 2017;25(3):661–72.
12. Iacobellis G. Epicardial and pericardial fat: close, but very different. *Obes Silver Spring Md*. aprile 2009;17(4):625; author reply 626–627.
13. Paeschke A, Erben U, Kredel LI, Kühl AA, Siegmund B. Role of visceral fat in colonic inflammation: from Crohn's disease to diverticulitis. *Curr Opin Gastroenterol*. gennaio 2017;33(1):53–8.
14. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. I principi di biochimica di Lehninger. 7. ed. italiana / a cura di Edon Melloni. Melloni E, curatore. Bologna: Zanichelli; 2018.
15. Brenner B, Klinker R, Kurtz A, Pape HC, Silbernagl S. Fisiologia. 4. ed. Napoli: EdiSes; 2017.
16. Gulletta E, Antonozzi I. Medicina di laboratorio: logica & patologia clinica. 3. ed. Padova: Piccin; 2019.
17. Lustig RH, Fennoy I. The History of Obesity Research. *Horm Res Paediatr*. 2022;95(6):638–48.
18. Rohde K, Keller M, la Cour Poulsen L, Blüher M, Kovacs P, Böttcher Y. Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism*. marzo 2019;92:37–50.

19. Kaur Y, de Souza RJ, Gibson WT, Meyre D. A systematic review of genetic syndromes with obesity. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* giugno 2017;18(6):603–34.
20. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* maggio 2019;15(5):288–98.
21. Harrison TR, Jameson JL, Fauci AS. *Harrison principi di medicina interna.* 20. ed. Rozzano: CEA; 2021.
22. Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med.* 7 dicembre 2004;141(11):846–50.
23. Bolton JL, Bilbo SD. Developmental programming of brain and behavior by perinatal diet: focus on inflammatory mechanisms. *Dialogues Clin Neurosci.* settembre 2014;16(3):307–20.
24. Corander MP, Coll AP. Melanocortins and body weight regulation: glucocorticoids, Agouti-related protein and beyond. *Eur J Pharmacol.* 11 giugno 2011;660(1):111–8.
25. Allison DB, Mentore JL, Heo M, Chandler LP, Cappelleri JC, Infante MC, et al. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am J Psychiatry.* novembre 1999;156(11):1686–96.
26. Filozof C, Fernández Pinilla MC, Fernández-Cruz A. Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* maggio 2004;5(2):95–103.
27. Allison KC, Stunkard AJ. Obesity and eating disorders. *Psychiatr Clin North Am.* marzo 2005;28(1):55–67, viii.
28. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH, World Obesity Federation. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* luglio 2017;18(7):715–23.
29. Hopkins M, Blundell JE. Energy balance, body composition, sedentariness and appetite regulation: pathways to obesity. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 1 settembre 2016;130(18):1615–28.
30. Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N Engl J Med.* 9 marzo 1995;332(10):621–8.
31. Sohn JW. Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB Rep.* 30 aprile 2015;48(4):229–33.
32. Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest.* gennaio 2007;117(1):13–23.
33. Ghigo E, Broglio F, Arvat E, Maccario M, Papotti M, Muccioli G. Ghrelin: more than a natural GH secretagogue and/or an orexigenic factor. *Clin Endocrinol (Oxf).* gennaio 2005;62(1):1–17.
34. Jéquier E. Pathways to obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes.* settembre 2002;26 Suppl 2:S12-17.
35. Park HK, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism.* gennaio 2015;64(1):24–34.
36. Amin T, Mercer JG. Hunger and Satiety Mechanisms and Their Potential Exploitation in the Regulation of Food Intake. *Curr Obes Rep.* marzo 2016;5(1):106–12.

37. Robbins SL, Cotran RS. Robbins e Cotran Patologia generale, anatomia patologica. 2, Robbins e Cotran Le basi patologiche delle malattie. Malattie degli organi e degli apparati. 10. ed. Abbas AK, Amorosi A, Aster JC, Kumar V, curatori. Milano: Edra; 2022.
38. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The Effects of Diet on Inflammation. *J Am Coll Cardiol*. agosto 2006;48(4):677–85.
39. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzamelis I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 1 novembre 2006;116(11):3015–25.
40. Okin D, Medzhitov R. Evolution of Inflammatory Diseases. *Curr Biol*. settembre 2012;22(17):R733–40.
41. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1 gennaio 1993;259(5091):87–91.
42. Nathan C. Epidemic Inflammation: Pondering Obesity. *Mol Med*. luglio 2008;14(7–8):485–92.
43. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. gennaio 2022;55(1):31–55.
44. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. settembre 2004;92(3):347–55.
45. Vachharajani V, Granger DN. Adipose tissue: a motor for the inflammation associated with obesity. *IUBMB Life*. aprile 2009;61(4):424–30.
46. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh DY, Sasik R, Schenk S, et al. Increased adipocyte O<sub>2</sub> consumption triggers HIF-1 $\alpha$ , causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell*. 5 giugno 2014;157(6):1339–52.
47. Neels JG, Olefsky JM. Inflamed fat: what starts the fire? *J Clin Invest*. gennaio 2006;116(1):33–5.
48. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annu Rev Immunol*. 23 aprile 2011;29(1):415–45.
49. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. gennaio 2007;117(1):175–84.
50. Murano I, Barbatelli G, Parisani V, Latini C, Muzzonigro G, Castellucci M, et al. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *J Lipid Res*. luglio 2008;49(7):1562–8.
51. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med*. agosto 2009;15(8):921–9.
52. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med*. agosto 2009;15(8):930–9.
53. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, et al. CD8<sup>+</sup> effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. agosto 2009;15(8):914–20.
54. Quail DF, Dannenberg AJ. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nat Rev Endocrinol*. marzo 2019;15(3):139–54.

55. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Zimmers TA, Koniaris LG, Furlanetto RW, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem.* 18 aprile 2003;278(16):13740–6.
56. Kita S, Maeda N, Shimomura I. Interorgan communication by exosomes, adipose tissue, and adiponectin in metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 1 ottobre 2019;129(10):4041–9.
57. Ying W, Riopel M, Bandyopadhyay G, Dong Y, Birmingham A, Seo JB, et al. Adipose Tissue Macrophage-Derived Exosomal miRNAs Can Modulate In Vivo and In Vitro Insulin Sensitivity. *Cell.* 5 ottobre 2017;171(2):372-384.e12.
58. Sharma V, Cowan DC. Obesity, Inflammation, and Severe Asthma: an Update. *Curr Allergy Asthma Rep.* 18 dicembre 2021;21(12):46.
59. Lefèbvre PJ. The metabolic syndrome revisited. *Int Congr Ser.* agosto 2003;1253:3–10.
60. Jung U, Choi MS. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 11 aprile 2014;15(4):6184–223.
61. Ehses JA, Perren A, Eppler E, Ribaux P, Pospisilik JA, Maor-Cahn R, et al. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetes.* settembre 2007;56(9):2356–70.
62. Maedler K, Sergeev P, Ris F, Oberholzer J, Joller-Jemelka HI, Spinas GA, et al. Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest.* settembre 2002;110(6):851–60.
63. Rodriguez-Calvo T, Ekwall O, Amirian N, Zapardiel-Gonzalo J, von Herrath MG. Increased immune cell infiltration of the exocrine pancreas: a possible contribution to the pathogenesis of type 1 diabetes. *Diabetes.* novembre 2014;63(11):3880–90.
64. Ying W, Lee YS, Dong Y, Seidman JS, Yang M, Isaac R, et al. Expansion of Islet-Resident Macrophages Leads to Inflammation Affecting  $\beta$  Cell Proliferation and Function in Obesity. *Cell Metab.* 5 febbraio 2019;29(2):457-474.e5.
65. Böni-Schnetzler M, Boller S, Debray S, Bouzakri K, Meier DT, Prazak R, et al. Free fatty acids induce a proinflammatory response in islets via the abundantly expressed interleukin-1 receptor I. *Endocrinology.* dicembre 2009;150(12):5218–29.
66. Masters SL, Dunne A, Subramanian SL, Hull RL, Tannahill GM, Sharp FA, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1 $\beta$  in type 2 diabetes. *Nat Immunol.* ottobre 2010;11(10):897–904.
67. Wen H, Gris D, Lei Y, Jha S, Zhang L, Huang MTH, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat Immunol.* maggio 2011;12(5):408–15.
68. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehses JA, Seifert B, et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 12 aprile 2007;356(15):1517–26.

69. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Ehlers JA, Donath MY, Mandrup-Poulsen T. Sustained effects of interleukin-1 receptor antagonist treatment in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. settembre 2009;32(9):1663–8.
70. Guay C, Menoud V, Rome S, Regazzi R. Horizontal transfer of exosomal microRNAs transduce apoptotic signals between pancreatic beta-cells. *Cell Commun Signal CCS*. 19 marzo 2015;13:17.
71. Javeed N, Her TK, Brown MR, Vanderboom P, Rakshit K, Egan AM, et al. Pro-inflammatory  $\beta$  cell small extracellular vesicles induce  $\beta$  cell failure through activation of the CXCL10/CXCR3 axis in diabetes. *Cell Rep*. 24 agosto 2021;36(8):109613.
72. Lakhter AJ, Pratt RE, Moore RE, Doucette KK, Maier BF, DiMeglio LA, et al. Beta cell extracellular vesicle miR-21-5p cargo is increased in response to inflammatory cytokines and serves as a biomarker of type 1 diabetes. *Diabetologia*. maggio 2018;61(5):1124–34.
73. RübSam A, Parikh S, Fort PE. Role of Inflammation in Diabetic Retinopathy. *Int J Mol Sci*. 22 marzo 2018;19(4):942.
74. Fang L, Xie D, Wu X, Cao H, Su W, Yang J. Involvement of endoplasmic reticulum stress in albuminuria induced inflammasome activation in renal proximal tubular cells. *PloS One*. 2013;8(8):e72344.
75. Shahzad K, Bock F, Al-Dabet MM, Gadi I, Kohli S, Nazir S, et al. Caspase-1, but Not Caspase-3, Promotes Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol JASN*. agosto 2016;27(8):2270–5.
76. Tang SCW, Yiu WH. Innate immunity in diabetic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. aprile 2020;16(4):206–22.
77. Vilaysane A, Chun J, Seamone ME, Wang W, Chin R, Hirota S, et al. The NLRP3 inflammasome promotes renal inflammation and contributes to CKD. *J Am Soc Nephrol JASN*. ottobre 2010;21(10):1732–44.
78. Bönhof GJ, Herder C, Strom A, Papanas N, Roden M, Ziegler D. Emerging Biomarkers, Tools, and Treatments for Diabetic Polyneuropathy. *Endocr Rev*. 1 febbraio 2019;40(1):153–92.
79. Herder C, Roden M, Ziegler D. Novel Insights into Sensorimotor and Cardiovascular Autonomic Neuropathy from Recent-Onset Diabetes and Population-Based Cohorts. *Trends Endocrinol Metab TEM*. maggio 2019;30(5):286–98.
80. Herder C, Kannenberg JM, Huth C, Carstensen-Kirberg M, Rathmann W, Koenig W, et al. Proinflammatory Cytokines Predict the Incidence and Progression of Distal Sensorimotor Polyneuropathy: KORA F4/FF4 Study. *Diabetes Care*. aprile 2017;40(4):569–76.
81. Herder C, Kannenberg JM, Carstensen-Kirberg M, Strom A, Bönhof GJ, Rathmann W, et al. A Systemic Inflammatory Signature Reflecting Cross Talk Between Innate and Adaptive Immunity Is Associated With Incident Polyneuropathy: KORA F4/FF4 Study. *Diabetes*. novembre 2018;67(11):2434–42.
82. Feingold KR, Serio MK, Adi S, Moser AH, Grunfeld C. Tumor necrosis factor stimulates hepatic lipid synthesis and secretion. *Endocrinology*. maggio 1989;124(5):2336–42.
83. Mizia-Stec K, Zahorska-Markiewicz B, Mandrecki T, Janowska J, Szulc A, Jastrzebska-Maj E, et al. Hyperlipidaemias and serum cytokines in patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol*. febbraio 2003;58(1):9–15.

84. Okamoto Y, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Libby P. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci Lond Engl* 1979. marzo 2006;110(3):267–78.
85. Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens*. febbraio 2005;19(2):149–54.
86. Ryan MJ. An Update on Immune System Activation in the Pathogenesis of Hypertension. *Hypertension*. agosto 2013;62(2):226–30.
87. Chrysant SG. Pathophysiology and treatment of obesity-related hypertension. *J Clin Hypertens*. maggio 2019;21(5):555–9.
88. Shankar A, Xiao J. Positive relationship between plasma leptin level and hypertension. *Hypertens Dallas Tex* 1979. ottobre 2010;56(4):623–8.
89. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res*. 13 marzo 2015;116(6):991–1006.
90. Hall JE. The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertens Dallas Tex* 1979. marzo 2003;41(3 Pt 2):625–33.
91. Santhekadur PK, Kumar DP, Seneshaw M, Mirshahi F, Sanyal AJ. The multifaceted role of natriuretic peptides in metabolic syndrome. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. agosto 2017;92:826–35.
92. Sugeran H, Windsor A, Bessos M, Wolfe L. Intra-abdominal pressure, sagittal abdominal diameter and obesity comorbidity. *J Intern Med*. gennaio 1997;241(1):71–9.
93. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA, Rahman A, Dikalov S, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med*. 1 ottobre 2007;204(10):2449–60.
94. Mathis KW, Venegas-Pont M, Masterson CW, Stewart NJ, Wasson KL, Ryan MJ. Oxidative stress promotes hypertension and albuminuria during the autoimmune disease systemic lupus erythematosus. *Hypertens Dallas Tex* 1979. marzo 2012;59(3):673–9.
95. Barhoumi T, Kasal DA, Li MW, Shbat L, Laurant P, Neves MF, et al. T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. *Hypertens Dallas Tex* 1979. marzo 2011;57(3):469–76.
96. Petidis K, Anyfanti P, Doumas M. Renal sympathetic denervation: renal function concerns. *Hypertens Dallas Tex* 1979. ottobre 2011;58(4):e19; author reply e20.
97. Chan CT, Moore JP, Budzyn K, Guida E, Diep H, Vinh A, et al. Reversal of vascular macrophage accumulation and hypertension by a CCR2 antagonist in deoxycorticosterone/salt-treated mice. *Hypertens Dallas Tex* 1979. novembre 2012;60(5):1207–12.
98. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. giugno 2009;6(6):399–409.
99. Swirski FK, Libby P, Aikawa E, Alcaide P, Luscinskas FW, Weissleder R, et al. Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. *J Clin Invest*. gennaio 2007;117(1):195–205.
100. Frostegård J, Ulfgrén AK, Nyberg P, Hedin U, Swedenborg J, Andersson U, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques:

- dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis*. luglio 1999;145(1):33–43.
101. Davenport P, Tipping PG. The role of interleukin-4 and interleukin-12 in the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Pathol*. settembre 2003;163(3):1117–25.
  102. Geng YJ, Libby P. Progression of atheroma: a struggle between death and procreation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1 settembre 2002;22(9):1370–80.
  103. Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy JY, Pober JS, Libby P. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation*. 15 luglio 1997;96(2):396–9.
  104. Clarke MCH, Figg N, Maguire JJ, Davenport AP, Goddard M, Littlewood TD, et al. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induces features of plaque vulnerability in atherosclerosis. *Nat Med*. settembre 2006;12(9):1075–80.
  105. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 14 dicembre 2006;444(7121):875–80.
  106. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*. 16 maggio 2001;285(19):2481–5.
  107. Buja LM, Netter FH, Krueger GRF. *Netter's illustrated human pathology*. Second edition. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2014. 528 p.
  108. Muris DMJ, Houben AJHM, Schram MT, Stehouwer CDA. Microvascular dysfunction: an emerging pathway in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Rev Endocr Metab Disord*. marzo 2013;14(1):29–38.
  109. Sorop O, Olver TD, Van De Wouw J, Heinonen I, Van Duin RW, Duncker DJ, et al. The microcirculation: a key player in obesity-associated cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. luglio 2017;113(9):1035–45.
  110. Scalia R. The microcirculation in adipose tissue inflammation. *Rev Endocr Metab Disord*. marzo 2013;14(1):69–76.
  111. Shimizu I, Aprahamian T, Kikuchi R, Shimizu A, Papanicolaou KN, MacLauchlan S, et al. Vascular rarefaction mediates whitening of brown fat in obesity. *J Clin Invest*. maggio 2014;124(5):2099–112.
  112. Duncker DJ, Koller A, Merkus D, Canty JM. Regulation of coronary blood flow in health and ischemic heart disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;57(5):409–22.
  113. Pries AR, Badimon L, Bugiardini R, Camici PG, Dorobantu M, Duncker DJ, et al. Coronary vascular regulation, remodelling, and collateralization: mechanisms and clinical implications on behalf of the working group on coronary pathophysiology and microcirculation. *Eur Heart J*. 1 dicembre 2015;36(45):3134–46.
  114. Feher A, Cassuto J, Szabo A, Patel V, Vinayak Kamath M, Bagi Z. Increased tissue angiotensin-converting enzyme activity impairs bradykinin-induced dilation of coronary arterioles in obesity. *Circ J Off J Jpn Circ Soc*. 2013;77(7):1867–76.

115. Owen MK, Noblet JN, Sassoon DJ, Conteh AM, Goodwill AG, Tune JD. Perivascular adipose tissue and coronary vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* agosto 2014;34(8):1643–9.
116. Gruber C, Kohlstedt K, Loot AE, Fleming I, Kummer W, Mühlfeld C. Stereological characterization of left ventricular cardiomyocytes, capillaries, and innervation in the nondiabetic, obese mouse. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol.* 2012;21(4):346–54.
117. Campbell DJ, Somaratne JB, Prior DL, Yii M, Kenny JF, Newcomb AE, et al. Obesity is associated with lower coronary microvascular density. *PLoS One.* 2013;8(11):e81798.
118. Shah SJ, Kitzman DW, Borlaug BA, van Heerebeek L, Zile MR, Kass DA, et al. Phenotype-Specific Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Multiorgan Roadmap. *Circulation.* 5 luglio 2016;134(1):73–90.
119. Mancuso P. Obesity and lung inflammation. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. marzo 2010;108(3):722–8.
120. Haque AK, Gadre S, Taylor J, Haque SA, Freeman D, Duarte A. Pulmonary and cardiovascular complications of obesity: an autopsy study of 76 obese subjects. *Arch Pathol Lab Med.* settembre 2008;132(9):1397–404.
121. Friedman SE, Andrus BW. Obesity and pulmonary hypertension: a review of pathophysiologic mechanisms. *J Obes.* 2012;2012:505274.
122. Pfister SL, Campbell WB. Reduced pulmonary artery vasoconstriction in methacholine in cholesterol-fed rabbits. *Hypertens Dallas Tex* 1979. marzo 1996;27(3 Pt 2):804–10.
123. Moral-Sanz J, Menendez C, Moreno L, Moreno E, Cogolludo A, Perez-Vizcaino F. Pulmonary arterial dysfunction in insulin resistant obese Zucker rats. *Respir Res.* 22 aprile 2011;12(1):51.
124. Ejerblad E, Forged CM, Lindblad P, Fryzek J, McLaughlin JK, Nyren O. Obesity and risk for chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol JASN.* giugno 2006;17(6):1695–702.
125. Chade AR, Hall JE. Role of the Renal Microcirculation in Progression of Chronic Kidney Injury in Obesity. *Am J Nephrol.* 2016;44(5):354–67.
126. Henegar JR, Bigler SA, Henegar LK, Tyagi SC, Hall JE. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *J Am Soc Nephrol JASN.* giugno 2001;12(6):1211–7.
127. Chade AR, Krier JD, Galili O, Lerman A, Lerman LO. Role of renal cortical neovascularization in experimental hypercholesterolemia. *Hypertens Dallas Tex* 1979. ottobre 2007;50(4):729–36.
128. Chade AR, Krier JD, Textor SC, Lerman A, Lerman LO. Endothelin-a receptor blockade improves renal microvascular architecture and function in experimental hypercholesterolemia. *J Am Soc Nephrol JASN.* dicembre 2006;17(12):3394–403.
129. Chade AR, Bentley MD, Zhu X, Rodriguez-Porcel M, Niemeyer S, Amores-Arriaga B, et al. Antioxidant intervention prevents renal neovascularization in hypercholesterolemic pigs. *J Am Soc Nephrol JASN.* luglio 2004;15(7):1816–25.
130. Li L, Zhao Z, Xia J, Xin L, Chen Y, Yang S, et al. A Long-Term High-Fat/High-Sucrose Diet Promotes Kidney Lipid Deposition and Causes

- Apoptosis and Glomerular Hypertrophy in Bama Minipigs. *PloS One*. 2015;10(11):e0142884.
131. Chade AR, Mushin OP, Zhu X, Rodriguez-Porcel M, Grande JP, Textor SC, et al. Pathways of renal fibrosis and modulation of matrix turnover in experimental hypercholesterolemia. *Hypertens Dallas Tex* 1979. ottobre 2005;46(4):772–9.
  132. Gabbay E, Slotki I, Shavit L. Weighing the evidence: obesity, metabolic syndrome, and the risk of chronic kidney disease. *BMC Nephrol*. 7 agosto 2015;16:133.
  133. Ter Maaten JM, Damman K, Verhaar MC, Paulus WJ, Duncker DJ, Cheng C, et al. Connecting heart failure with preserved ejection fraction and renal dysfunction: the role of endothelial dysfunction and inflammation. *Eur J Heart Fail*. giugno 2016;18(6):588–98.
  134. Rincon F, Wright CB. Current pathophysiological concepts in cerebral small vessel disease. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:24.
  135. Lavi S, Gaitini D, Milloul V, Jacob G. Impaired cerebral CO<sub>2</sub> vasoreactivity: association with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. ottobre 2006;291(4):H1856-1861.
  136. Katakam PVG, Snipes JA, Steed MM, Busija DW. Insulin-induced generation of reactive oxygen species and uncoupling of nitric oxide synthase underlie the cerebrovascular insulin resistance in obese rats. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. maggio 2012;32(5):792–804.
  137. Chantler PD, Shrader CD, Tabone LE, d’Audiffret AC, Huseynova K, Brooks SD, et al. Cerebral Cortical Microvascular Rarefaction in Metabolic Syndrome is Dependent on Insulin Resistance and Loss of Nitric Oxide Bioavailability. *Microcirc N Y N* 1994. agosto 2015;22(6):435–45.
  138. Bernier M, Wahl D, Ali A, Allard J, Faulkner S, Wnorowski A, et al. Resveratrol supplementation confers neuroprotection in cortical brain tissue of nonhuman primates fed a high-fat/sucrose diet. *Aging*. maggio 2016;8(5):899–916.
  139. Weghuber D, Zaknun D, Nasel C, Willforth-Ehringer A, Müller T, Boriss-Riedl M, et al. Early cerebrovascular disease in a 2-year-old with extreme obesity and complete metabolic syndrome due to feeding of excessively high amounts of energy. *Eur J Pediatr*. gennaio 2007;166(1):37–41.
  140. Agapitov AV, Correia MLG, Sinkey CA, Dopp JM, Haynes WG. Impaired skeletal muscle and skin microcirculatory function in human obesity. *J Hypertens*. luglio 2002;20(7):1401–5.
  141. Limberg JK, Morgan BJ, Sebranek JJ, Proctor LT, Eldridge MW, Schrage WG. Neural control of blood flow during exercise in human metabolic syndrome. *Exp Physiol*. settembre 2014;99(9):1191–202.
  142. Harrell JW, Johansson RE, Evans TD, Sebranek JJ, Walker BJ, Eldridge MW, et al. Preserved Microvascular Endothelial Function in Young, Obese Adults with Functional Loss of Nitric Oxide Signaling. *Front Physiol*. 2015;6:387.
  143. Hällsten K, Yki-Järvinen H, Peltoniemi P, Oikonen V, Takala T, Kempainen J, et al. Insulin- and exercise-stimulated skeletal muscle blood flow and glucose uptake in obese men. *Obes Res*. febbraio 2003;11(2):257–65.

144. La Favor JD, Dubis GS, Yan H, White JD, Nelson MAM, Anderson EJ, et al. Microvascular Endothelial Dysfunction in Sedentary, Obese Humans Is Mediated by NADPH Oxidase: Influence of Exercise Training. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* dicembre 2016;36(12):2412–20.
145. Frisbee JC, Goodwill AG, Frisbee SJ, Butcher JT, Brock RW, Olfert IM, et al. Distinct temporal phases of microvascular rarefaction in skeletal muscle of obese Zucker rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 15 dicembre 2014;307(12):H1714-1728.
146. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després JP, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* [Internet]. 25 maggio 2021 [citato 31 maggio 2023];143(21). Disponibile su: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000000973>
147. Ong KL, Ding J, McClelland RL, Cheung BMY, Criqui MH, Barter PJ, et al. Relationship of pericardial fat with lipoprotein distribution: The Multi-Ethnic study of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* agosto 2015;241(2):664–70.
148. Shah RV, Anderson A, Ding J, Budoff M, Rider O, Petersen SE, et al. Pericardial, But Not Hepatic, Fat by CT Is Associated With CV Outcomes and Structure: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* settembre 2017;10(9):1016–27.
149. Iacobellis G. Local and systemic effects of the multifaceted epicardial adipose tissue depot. *Nat Rev Endocrinol.* giugno 2015;11(6):363–71.
150. Iacobellis G, Ribaldo MC, Assael F, Vecci E, Tiberti C, Zappaterreno A, et al. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab.* novembre 2003;88(11):5163–8.
151. Akilli H, Kayrak M, Bekci TT, Erdogan Hİ, Aribas A, Yildirim O, et al. Gender-related changes of the epicardial fat thickness and leptin in obstructive sleep apnea. *Echocardiogr Mt Kisco N.* aprile 2014;31(4):411–9.
152. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation.* maggio 1983;67(5):968–77.
153. Shimabukuro M, Hirata Y, Tabata M, Dagvasumberel M, Sato H, Kurobe H, et al. Epicardial adipose tissue volume and adipocytokine imbalance are strongly linked to human coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* maggio 2013;33(5):1077–84.
154. Ishii T, Asuwa N, Masuda S, Ishikawa Y. The effects of a myocardial bridge on coronary atherosclerosis and ischaemia. *J Pathol.* maggio 1998;185(1):4–9.
155. Ishikawa Y, Ishii T, Asuwa N, Masuda S. Absence of atherosclerosis evolution in the coronary arterial segment covered by myocardial tissue in cholesterol-fed rabbits. *Virchows Arch Int J Pathol.* febbraio 1997;430(2):163–71.
156. Ren J, Wu NN, Wang S, Sowers JR, Zhang Y. Obesity cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. *Physiol Rev.* 1 ottobre 2021;101(4):1745–807.

157. Zhang Y, Ren J. Role of cardiac steatosis and lipotoxicity in obesity cardiomyopathy. *Hypertens Dallas Tex* 1979. febbraio 2011;57(2):148–50.
158. González N, Moreno-Villegas Z, González-Bris A, Egido J, Lorenzo Ó. Regulation of visceral and epicardial adipose tissue for preventing cardiovascular injuries associated to obesity and diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 4 aprile 2017;16(1):44.
159. Packer M. Epicardial Adipose Tissue May Mediate Deleterious Effects of Obesity and Inflammation on the Myocardium. *J Am Coll Cardiol*. 22 maggio 2018;71(20):2360–72.
160. Essick EE, Ouchi N, Wilson RM, Ohashi K, Ghobrial J, Shibata R, et al. Adiponectin mediates cardioprotection in oxidative stress-induced cardiac myocyte remodeling. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. settembre 2011;301(3):H984–93.
161. Patel V, Adya R, Chen J, Ramanjaneya M, Bari MF, Bhudia SK, et al. Novel Insights into the Cardio-Protective Effects of FGF21 in Lean and Obese Rat Hearts. Hirsch E, curatore. *PLoS ONE*. 3 febbraio 2014;9(2):e87102.
162. Kondo H, Abe I, Gotoh K, Fukui A, Takanari H, Ishii Y, et al. Interleukin 10 Treatment Ameliorates High-Fat Diet-Induced Inflammatory Atrial Remodeling and Fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. maggio 2018;11(5):e006040.
163. Rajapurohitam V, Gan XT, Kirshenbaum LA, Karmazyn M. The Obesity-Associated Peptide Leptin Induces Hypertrophy in Neonatal Rat Ventricular Myocytes. *Circ Res*. 22 agosto 2003;93(4):277–9.
164. Kim M, Oh JK, Sakata S, Liang I, Park W, Hajjar RJ, et al. Role of resistin in cardiac contractility and hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. agosto 2008;45(2):270–80.
165. Carroll J, Tyagi S. Extracellular Matrix Remodeling in the Heart of the Homocysteinemic Obese Rabbit. *Am J Hypertens*. maggio 2005;18(5):692–8.
166. Mouton AJ, Li X, Hall ME, Hall JE. Obesity, Hypertension, and Cardiac Dysfunction: Novel Roles of Immunometabolism in Macrophage Activation and Inflammation. *Circ Res*. 13 marzo 2020;126(6):789–806.
167. Hulsmans M, Sager HB, Roh JD, Valero-Muñoz M, Houstis NE, Iwamoto Y, et al. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction. *J Exp Med*. 5 febbraio 2018;215(2):423–40.
168. Alpert MA, Lavie CJ, Agrawal H, Aggarwal KB, Kumar SA. Obesity and heart failure: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Transl Res*. ottobre 2014;164(4):345–56.
169. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: Pathophysiology, Evaluation, and Effect of Weight Loss: An Update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease From the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 14 febbraio 2006;113(6):898–918.
170. Csige I, Ujvárosy D, Szabó Z, Lőrincz I, Paragh G, Harangi M, et al. The Impact of Obesity on the Cardiovascular System. *J Diabetes Res*. 4 novembre 2018;2018:1–12.

171. Kitzman DW, Lam CSP. Obese Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Phenotype: From Pariah to Central Player. *Circulation*. 4 luglio 2017;136(1):20–3.
172. Hu G, Jousilahti P, Antikainen R, Katzmarzyk PT, Tuomilehto J. Joint Effects of Physical Activity, Body Mass Index, Waist Circumference, and Waist-to-Hip Ratio on the Risk of Heart Failure. *Circulation*. 19 gennaio 2010;121(2):237–44.
173. Neeland IJ, Gupta S, Ayers CR, Turer AT, Rame JE, Das SR, et al. Relation of Regional Fat Distribution to Left Ventricular Structure and Function. *Circ Cardiovasc Imaging*. settembre 2013;6(5):800–7.
174. Rodriguez Flores M, Aguilar Salinas C, Piché ME, Auclair A, Poirier P. Effect of bariatric surgery on heart failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 3 agosto 2017;15(8):567–79.
175. Rosengren A, Hauptman PJ, Lappas G, Olsson L, Wilhelmsen L, Swedberg K. Big men and atrial fibrillation: effects of body size and weight gain on risk of atrial fibrillation in men. *Eur Heart J*. 1 maggio 2009;30(9):1113–20.
176. Abed HS, Samuel CS, Lau DH, Kelly DJ, Royce SG, Alasady M, et al. Obesity results in progressive atrial structural and electrical remodeling: implications for atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. gennaio 2013;10(1):90–100.
177. Mahajan R, Lau DH, Brooks AG, Shipp NJ, Manavis J, Wood JPM, et al. Electrophysiological, Electroanatomical, and Structural Remodeling of the Atria as Consequences of Sustained Obesity. *J Am Coll Cardiol*. 7 luglio 2015;66(1):1–11.
178. Munger TM, Dong YX, Masaki M, Oh JK, Mankad SV, Borlaug BA, et al. Electrophysiological and Hemodynamic Characteristics Associated With Obesity in Patients With Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. agosto 2012;60(9):851–60.
179. Al Chekatie MO, Welles CC, Metoyer R, Ibrahim A, Shapira AR, Cytron J, et al. Pericardial Fat Is Independently Associated With Human Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. agosto 2010;56(10):784–8.
180. Aune D, Schlesinger S, Norat T, Riboli E. Body mass index, abdominal fatness, and the risk of sudden cardiac death: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol*. agosto 2018;33(8):711–22.
181. Fraley MA, Birchem JA, Senkottaiyan N, Alpert MA. Obesity and the electrocardiogram. *Obes Rev*. novembre 2005;6(4):275–81.
182. Pietrasik G, Goldenberg I, McNITT S, Moss AJ, Zareba W. Obesity As a Risk Factor for Sustained Ventricular Tachyarrhythmias in MADIT II Patients. *J Cardiovasc Electrophysiol*. febbraio 2007;18(2):181–4.
183. Kasper EK, Hruban RH, Baughman KL. Cardiomyopathy of obesity: A clinicopathologic evaluation of 43 obese patients with heart failure. *Am J Cardiol*. ottobre 1992;70(9):921–4.
184. Russo C, Jin Z, Homma S, Rundek T, Elkind MSV, Sacco RL, et al. Effect of Obesity and Overweight on Left Ventricular Diastolic Function. *J Am Coll Cardiol*. marzo 2011;57(12):1368–74.
185. Narayanan K, Zhang L, Kim C, Uy-Evanado A, Teodorescu C, Reinier K, et al. QRS Fragmentation and Sudden Cardiac Death in the Obese and Overweight. *J Am Heart Assoc*. 10 marzo 2015;4(3):e001654.

186. Wu CK, Tsai HY, Su MYM, Wu YF, Hwang JJ, Tseng WY, et al. Pericardial fat is associated with ventricular tachyarrhythmia and mortality in patients with systolic heart failure. *Atherosclerosis*. agosto 2015;241(2):607–14.
187. Pouliopoulos J, Chik WWB, Kanthan A, Sivagangabalan G, Barry MA, Fahmy PNA, et al. Intramyocardial Adiposity After Myocardial Infarction: New Implications of a Substrate for Ventricular Tachycardia. *Circulation*. 19 novembre 2013;128(21):2296–308.
188. Murugan AT, Sharma G. Obesity and respiratory diseases. *Chron Respir Dis*. 2008;5(4):233–42.
189. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 agosto 2008;178(3):218–24.
190. Coumou H, Bel EH. Improving the diagnosis of eosinophilic asthma. *Expert Rev Respir Med*. ottobre 2016;10(10):1093–103.
191. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol*. gennaio 2015;16(1):45–56.
192. Halwani R, Sultana A, Vazquez-Tello A, Jamhawi A, Al-Masri AA, Al-Muhsen S. Th-17 regulatory cytokines IL-21, IL-23, and IL-6 enhance neutrophil production of IL-17 cytokines during asthma. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. novembre 2017;54(9):893–904.
193. Berry MA, Hargadon B, Shelley M, Parker D, Shaw DE, Green RH, et al. Evidence of a role of tumor necrosis factor alpha in refractory asthma. *N Engl J Med*. 16 febbraio 2006;354(7):697–708.
194. Bantulà M, Roca-Ferrer J, Arismendi E, Picado C. Asthma and Obesity: Two Diseases on the Rise and Bridged by Inflammation. *J Clin Med*. 6 gennaio 2021;10(2):169.
195. Scott HA, Gibson PG, Garg ML, Wood LG. Airway inflammation is augmented by obesity and fatty acids in asthma. *Eur Respir J*. settembre 2011;38(3):594–602.
196. Telenga ED, Tideman SW, Kerstjens H a. M, Hacken NHTT, Timens W, Postma DS, et al. Obesity in asthma: more neutrophilic inflammation as a possible explanation for a reduced treatment response. *Allergy*. agosto 2012;67(8):1060–8.
197. Kim HY, Lee HJ, Chang YJ, Pichavant M, Shore SA, Fitzgerald KA, et al. Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nat Med*. gennaio 2014;20(1):54–61.
198. Morjaria JB, Babu KS, Vijayanand P, Chauhan AJ, Davies DE, Holgate ST. Sputum IL-6 concentrations in severe asthma and its relationship with FEV1. *Thorax*. giugno 2011;66(6):537.
199. Wood LG, Li Q, Scott HA, Rutting S, Berthon BS, Gibson PG, et al. Saturated fatty acids, obesity, and the nucleotide oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. gennaio 2019;143(1):305–15.
200. Tsaroucha A, Daniil Z, Malli F, Georgoulas P, Minas M, Kostikas K, et al. Leptin, adiponectin, and ghrelin levels in female patients with asthma during stable and exacerbation periods. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. marzo 2013;50(2):188–97.

201. Singh S, Prakash YS, Linneberg A, Agrawal A. Insulin and the lung: connecting asthma and metabolic syndrome. *J Allergy*. 2013;2013:627384.
202. Stacher E, Graham BB, Hunt JM, Gandjeva A, Groshong SD, McLaughlin VV, et al. Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 agosto 2012;186(3):261–72.
203. Humbert M, Monti G, Brenot F, Sitbon O, Portier A, Grangeot-Keros L, et al. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. maggio 1995;151(5):1628–31.
204. Steiner MK, Syrkina OL, Kolliputi N, Mark EJ, Hales CA, Waxman AB. Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension. *Circ Res*. 30 gennaio 2009;104(2):236–44, 28p following 244.
205. Sawada H, Saito T, Nickel NP, Alastalo TP, Glotzbach JP, Chan R, et al. Reduced BMPR2 expression induces GM-CSF translation and macrophage recruitment in humans and mice to exacerbate pulmonary hypertension. *J Exp Med*. 10 febbraio 2014;211(2):263–80.
206. Hager-Theodorides AL, Outram SV, Shah DK, Sacedon R, Shrimpton RE, Vicente A, et al. Bone morphogenetic protein 2/4 signaling regulates early thymocyte differentiation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 novembre 2002;169(10):5496–504.
207. Tamby MC, Chanseaud Y, Humbert M, Fermanian J, Guilpain P, Garcia-de-la-Peña-Lefebvre P, et al. Anti-endothelial cell antibodies in idiopathic and systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension. *Thorax*. settembre 2005;60(9):765–72.
208. Perros F, Dorfmueller P, Souza R, Durand-Gasselini I, Mussot S, Mazmanian M, et al. Dendritic cell recruitment in lesions of human and experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. marzo 2007;29(3):462–8.
209. Colvin KL, Cripe PJ, Ivy DD, Stenmark KR, Yeager ME. Bronchus-associated lymphoid tissue in pulmonary hypertension produces pathologic autoantibodies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 novembre 2013;188(9):1126–36.
210. Vergadi E, Chang MS, Lee C, Liang OD, Liu X, Fernandez-Gonzalez A, et al. Early macrophage recruitment and alternative activation are critical for the later development of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation*. 10 maggio 2011;123(18):1986–95.
211. Tian W, Jiang X, Tamosiuniene R, Sung YK, Qian J, Dhillon G, et al. Blocking macrophage leukotriene b4 prevents endothelial injury and reverses pulmonary hypertension. *Sci Transl Med*. 28 agosto 2013;5(200):200ra117.
212. Fujita M, Shannon JM, Irvin CG, Fagan KA, Cool C, Augustin A, et al. Overexpression of tumor necrosis factor-alpha produces an increase in lung volumes and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. gennaio 2001;280(1):L39-49.
213. Thompson K, Rabinovitch M. Exogenous leukocyte and endogenous elastases can mediate mitogenic activity in pulmonary artery smooth muscle cells by release of extracellular-matrix bound basic fibroblast growth factor. *J Cell Physiol*. marzo 1996;166(3):495–505.
214. Senior RM, Griffin GL, Mecham RP. Chemotactic activity of elastin-derived peptides. *J Clin Invest*. ottobre 1980;66(4):859–62.

215. Rabinovitch M, Guignabert C, Humbert M, Nicolls MR. Inflammation and Immunity in the Pathogenesis of Pulmonary Arterial Hypertension. *Circ Res.* 20 giugno 2014;115(1):165–75.
216. Voelkel NF, Mizuno S, Bogaard HJ. The role of hypoxia in pulmonary vascular diseases: a perspective. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 1 aprile 2013;304(7):L457-465.
217. Huertas A, Tu L, Thuillet R, Le Hiress M, Phan C, Ricard N, et al. Leptin signalling system as a target for pulmonary arterial hypertension therapy. *Eur Respir J.* aprile 2015;45(4):1066–80.
218. Mair KM, Harvey KY, Henry AD, Hillyard DZ, Nilsen M, MacLean MR. Obesity alters oestrogen metabolism and contributes to pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* giugno 2019;53(6):1801524.
219. Nagaya N, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Nakanishi N, et al. Serum Uric Acid Levels Correlate with the Severity and the Mortality of Primary Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 agosto 1999;160(2):487–92.
220. Kwiat VR, Reis G, Valera IC, Parvatiyar K, Parvatiyar MS. Autoimmunity as a sequela to obesity and systemic inflammation. *Front Physiol.* 21 novembre 2022;13:887702.
221. Wei L, Li Y, Yu Y, Xu M, Chen H, Li L, et al. Obesity-Related Glomerulopathy: From Mechanism to Therapeutic Target. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* ottobre 2021;Volume 14:4371–80.
222. Arabi T, Shafqat A, Sabbah BN, Fawzy NA, Shah H, Abdulkader H, et al. Obesity-related kidney disease: Beyond hypertension and insulin-resistance. *Front Endocrinol.* 16 gennaio 2023;13:1095211.
223. Lu H, Ouyang W, Huang C. Inflammation, a Key Event in Cancer Development. *Mol Cancer Res.* 1 aprile 2006;4(4):221–33.
224. Purdy JC, Shatzel JJ. The hematologic consequences of obesity. *Eur J Haematol.* marzo 2021;106(3):306–19.
225. Kumthekar A, Ogdie A. Obesity and Psoriatic Arthritis: A Narrative Review. *Rheumatol Ther.* settembre 2020;7(3):447–56.
226. Gómez-Apo E, Mondragón-Maya A, Ferrari-Díaz M, Silva-Pereyra J. Structural Brain Changes Associated with Overweight and Obesity. Weller A, curatore. *J Obes.* 16 luglio 2021;2021:1–18.
227. Fulton S, Décarie-Spain L, Fioramonti X, Guiard B, Nakajima S. The menace of obesity to depression and anxiety prevalence. *Trends Endocrinol Metab.* gennaio 2022;33(1):18–35.
228. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev.* giugno 2014;13(6):668–77.
229. Winer S, Paltser G, Chan Y, Tsui H, Engleman E, Winer D, et al. Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur J Immunol.* settembre 2009;39(9):2629–35.
230. Arai S, Maehara N, Iwamura Y, Honda S ichiro, Nakashima K, Kai T, et al. Obesity-associated autoantibody production requires AIM to retain the immunoglobulin M immune complex on follicular dendritic cells. *Cell Rep.* 25 aprile 2013;3(4):1187–98.
231. Brown K, DeCoffe D, Molcan E, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients.* agosto 2012;4(8):1095–119.
232. Soskić S, Stokić E, Isenović ER. The relationship between vitamin D and obesity. *Curr Med Res Opin.* giugno 2014;30(6):1197–9.

233. Schoindre Y, Terrier B, Kahn JE, Saadoun D, Souberbielle JC, Benveniste O, et al. [Vitamin D and autoimmunity. First part: Fundamental aspects]. *Rev Med Interne*. febbraio 2012;33(2):80–6.
234. Lukens JR, Dixit VD, Kanneganti TD. Inflammasome activation in obesity-related inflammatory diseases and autoimmunity. *Discov Med*. luglio 2011;12(62):65–74.
235. Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: Not a passive bystander. *Autoimmun Rev*. settembre 2014;13(9):981–1000.
236. Gary T, Belaj K, Bruckenberg R, Hackl G, Hafner F, Froehlich H, et al. Primary antiphospholipid antibody syndrome-one further aspect of thrombophilia in overweight and obese patients with venous thromboembolism. *Obes Silver Spring Md*. settembre 2013;21(9):E463-466.
237. Filková M, Senolt L, Vencovský J. The role of resistin in inflammatory myopathies. *Curr Rheumatol Rep*. giugno 2013;15(6):336.
238. Gheita TA, El-Gazzar II, El Shazly RI, El-Din AMN, Abdel-Rasheed E, Bassyouni RH. Elevated serum resistin in juvenile idiopathic arthritis: relation to categories and disease activity. *J Clin Immunol*. gennaio 2013;33(1):297–301.
239. Francisco V, Pino J, Campos-Cabaleiro V, Ruiz-Fernández C, Mera A, Gonzalez-Gay MA, et al. Obesity, Fat Mass and Immune System: Role for Leptin. *Front Physiol*. 2018;9:640.
240. Matarese G, Moschos S, Mantzoros CS. Leptin in immunology. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 marzo 2005;174(6):3137–42.
241. La Cava A. Leptin in inflammation and autoimmunity. *Cytokine*. ottobre 2017;98:51–8.
242. Sanna V, Di Giacomo A, La Cava A, Lechler RI, Fontana S, Zappacosta S, et al. Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses. *J Clin Invest*. 15 gennaio 2003;111(2):241–50.
243. Tarzi RM, Cook HT, Jackson I, Pusey CD, Lord GM. Leptin-Deficient Mice Are Protected from Accelerated Nephrotoxic Nephritis. *Am J Pathol*. febbraio 2004;164(2):385–90.
244. Busso N, So A, Chobaz-Péclat V, Morard C, Martinez-Soria E, Talabot-Ayer D, et al. Leptin Signaling Deficiency Impairs Humoral and Cellular Immune Responses and Attenuates Experimental Arthritis. *J Immunol*. 15 gennaio 2002;168(2):875–82.
245. Faggioni R, Jones-Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C, et al. Leptin-deficient ( *ob / ob* ) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity: Role of tumor necrosis factor  $\alpha$  and IL-18. *Proc Natl Acad Sci*. 29 febbraio 2000;97(5):2367–72.
246. Siegmund B, Lehr HA, Fantuzzi G. Leptin: a pivotal mediator of intestinal inflammation in mice. *Gastroenterology*. giugno 2002;122(7):2011–25.
247. Fujita Y, Fujii T, Mimori T, Sato T, Nakamura T, Iwao H, et al. Deficient leptin signaling ameliorates systemic lupus erythematosus lesions in MRL/Mp-Fas lpr mice. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 febbraio 2014;192(3):979–84.
248. Stofkova A. Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity. *Endocr Regul*. gennaio 2010;44(1):25–36.

249. Rodrigues CEM, Vendramini MB, Bueno C, Bonfá E, de Carvalho JF. Adipocytokines in primary antiphospholipid syndrome: potential markers of low-grade inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(6):871–8.
250. Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, Kehayias JJ, Zhuang H, Dawson-Hughes B, et al. Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J Clin Invest.* giugno 1994;93(6):2379–86.
251. Crowson CS, Matteson EL, Davis JM, Gabriel SE. Contribution of obesity to the rise in incidence of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res.* gennaio 2013;65(1):71–7.
252. Wesley A, Bengtsson C, Elkan AC, Klareskog L, Alfredsson L, Wedrén S, et al. Association between body mass index and anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis: results from a population-based case-control study. *Arthritis Care Res.* gennaio 2013;65(1):107–12.
253. Voigt LF, Koepsell TD, Nelson JL, Dugowson CE, Daling JR. Smoking, obesity, alcohol consumption, and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiol Camb Mass.* settembre 1994;5(5):525–32.
254. Bartfai T, Waalen J, Buxbaum JN. Adipose tissue as a modulator of clinical inflammation: does obesity reduce the prevalence of rheumatoid arthritis? *J Rheumatol.* marzo 2007;34(3):488–92.
255. Ajeganova S, Andersson ML, Hafström I, BARFOT Study Group. Association of obesity with worse disease severity in rheumatoid arthritis as well as with comorbidities: a long-term followup from disease onset. *Arthritis Care Res.* gennaio 2013;65(1):78–87.
256. Naranjo A, Sokka T, Descalzo MA, Calvo-Alén J, Hørslev-Petersen K, Luukkainen RK, et al. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(2):R30.
257. Otero M, Lago R, Gomez R, Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino JJ, et al. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* settembre 2006;65(9):1198–201.
258. Westhoff G, Rau R, Zink A. Radiographic joint damage in early rheumatoid arthritis is highly dependent on body mass index. *Arthritis Rheum.* novembre 2007;56(11):3575–82.
259. Rohrmann S, Shiels MS, Lopez DS, Rifai N, Nelson WG, Kanarek N, et al. Body fatness and sex steroid hormone concentrations in US men: results from NHANES III. *Cancer Causes Control CCC.* agosto 2011;22(8):1141–51.
260. Schäffler A, Ehling A, Neumann E, Herfarth H, Tarner I, Schölmerich J, et al. Adipocytokines in synovial fluid. *JAMA.* 1 ottobre 2003;290(13):1709–10.
261. Olama SM, Senna MK, Elarman M. Synovial/serum leptin ratio in rheumatoid arthritis: the association with activity and erosion. *Rheumatol Int.* marzo 2012;32(3):683–90.
262. Gómez R, Scotece M, Conde J, Gómez-Reino JJ, Lago F, Gualillo O. Adiponectin and leptin increase IL-8 production in human chondrocytes. *Ann Rheum Dis.* novembre 2011;70(11):2052–4.

263. Bao J peng, Chen W ping, Feng J, Hu P fei, Shi Z li, Wu L dong. Leptin plays a catabolic role on articular cartilage. *Mol Biol Rep.* ottobre 2010;37(7):3265–72.
264. Tong KM, Chen CP, Huang KC, Shieh DC, Cheng HC, Tzeng CY, et al. Adiponectin increases MMP-3 expression in human chondrocytes through AdipoR1 signaling pathway. *J Cell Biochem.* maggio 2011;112(5):1431–40.
265. González-Gay MA, González-Juanatey C. Rheumatoid arthritis: Obesity impairs efficacy of anti-TNF therapy in patients with RA. *Nat Rev Rheumatol.* novembre 2012;8(11):641–2.
266. Oliver JE, Silman AJ. What epidemiology has told us about risk factors and aetiopathogenesis in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):223.
267. Amarilyo G, Iikuni N, Shi FD, Liu A, Matarese G, La Cava A. Leptin promotes lupus T-cell autoimmunity. *Clin Immunol Orlando Fla.* dicembre 2013;149(3):530–3.
268. Yu Y, Liu Y, Shi FD, Zou H, Matarese G, La Cava A. Cutting edge: Leptin-induced ROR $\gamma$ t expression in CD4<sup>+</sup> T cells promotes Th17 responses in systemic lupus erythematosus. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 aprile 2013;190(7):3054–8.
269. Liu Y, Yu Y, Matarese G, La Cava A. Cutting edge: fasting-induced hypoleptinemia expands functional regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 marzo 2012;188(5):2070–3.
270. Katz P, Gregorich S, Yazdany J, Trupin L, Julian L, Yelin E, et al. Obesity and its measurement in a community-based sample of women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res.* febbraio 2011;63(2):261–8.
271. Rizk A, Gheita TA, Nassef S, Abdallah A. The impact of obesity in systemic lupus erythematosus on disease parameters, quality of life, functional capacity and the risk of atherosclerosis. *Int J Rheum Dis.* giugno 2012;15(3):261–7.
272. Chaiamnuay S, Bertoli AM, Fernández M, Apte M, Vilá LM, Reveille JD, et al. The impact of increased body mass index on systemic lupus erythematosus: data from LUMINA, a multiethnic cohort (LUMINA XLVI) [corrected]. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis.* giugno 2007;13(3):128–33.
273. Vadacca M, Margiotta D, Rigon A, Cacciapaglia F, Coppolino G, Amoroso A, et al. Adipokines and systemic lupus erythematosus: relationship with metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *J Rheumatol.* febbraio 2009;36(2):295–7.
274. Jamnitski A, Symmons D, Peters MJL, Sattar N, McInnes I, Nurmohamed MT. Cardiovascular comorbidities in patients with psoriatic arthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis.* febbraio 2013;72(2):211–6.
275. Husted JA, Thavaneswaran A, Chandran V, Eder L, Rosen CF, Cook RJ, et al. Cardiovascular and other comorbidities in patients with psoriatic arthritis: a comparison with patients with psoriasis. *Arthritis Care Res.* dicembre 2011;63(12):1729–35.
276. Russolillo A, Iervolino S, Peluso R, Lupoli R, Di Minno A, Pappone N, et al. Obesity and psoriatic arthritis: from pathogenesis to clinical outcome and management. *Rheumatol Oxf Engl.* gennaio 2013;52(1):62–7.

277. Li W, Han J, Qureshi AA. Obesity and risk of incident psoriatic arthritis in US women. *Ann Rheum Dis.* agosto 2012;71(8):1267–72.
278. Michalak-Stoma A, Pietrzak A, Szepietowski JC, Zalewska-Janowska A, Paszkowski T, Chodorowska G. Cytokine network in psoriasis revisited. *Eur Cytokine Netw.* dicembre 2011;22(4):160–8.
279. Johnston A, Arnadottir S, Gudjonsson JE, Aphale A, Sigmarsson AA, Gunnarsson SI, et al. Obesity in psoriasis: leptin and resistin as mediators of cutaneous inflammation. *Br J Dermatol.* agosto 2008;159(2):342–50.
280. Xue Y, Jiang L, Cheng Q, Chen H, Yu Y, Lin Y, et al. Adipokines in psoriatic arthritis patients: the correlations with osteoclast precursors and bone erosions. *PloS One.* 2012;7(10):e46740.
281. Ismail SA, Mohamed SA. Serum levels of visfatin and omentin-1 in patients with psoriasis and their relation to disease severity. *Br J Dermatol.* agosto 2012;167(2):436–9.
282. Zhu KJ, Shi G, Zhang C, Li M, Zhu CY, Fan YM. Adiponectin levels in patients with psoriasis: a meta-analysis. *J Dermatol.* giugno 2013;40(6):438–42.
283. Montaudié H, Sbidian E, Paul C, Maza A, Gallini A, Aractingi S, et al. Methotrexate in psoriasis: a systematic review of treatment modalities, incidence, risk factors and monitoring of liver toxicity. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* maggio 2011;25 Suppl 2:12–8.
284. Shibata N, Hayakawa T, Hoshino N, Minouchi T, Yamaji A, Uehara M. Effect of obesity on cyclosporine trough concentrations in psoriasis patients. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 1 agosto 1998;55(15):1598–602.
285. Lebwohl M, Yeilding N, Szapary P, Wang Y, Li S, Zhu Y, et al. Impact of weight on the efficacy and safety of ustekinumab in patients with moderate to severe psoriasis: rationale for dosing recommendations. *J Am Acad Dermatol.* ottobre 2010;63(4):571–9.
286. Cassinotti A, Sarzi-Puttini P, Fichera M, Shoenfeld Y, de Franchis R, Ardizzone S. Immunity, autoimmunity and inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev.* gennaio 2014;13(1):1–2.
287. Chan SSM, Luben R, Olsen A, Tjonneland A, Kaaks R, Teucher B, et al. Body mass index and the risk for Crohn's disease and ulcerative colitis: data from a European Prospective Cohort Study (The IBD in EPIC Study). *Am J Gastroenterol.* aprile 2013;108(4):575–82.
288. Mendall MA, Gunasekera AV, John BJ, Kumar D. Is obesity a risk factor for Crohn's disease? *Dig Dis Sci.* marzo 2011;56(3):837–44.
289. Sheehan AL, Warren BF, Gear MW, Shepherd NA. Fat-wrapping in Crohn's disease: pathological basis and relevance to surgical practice. *Br J Surg.* settembre 1992;79(9):955–8.
290. Karmiris K, Koutroubakis IE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis EA. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* febbraio 2006;12(2):100–5.
291. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 febbraio 2007;178(3):1748–58.

292. Tuzun A, Uygun A, Yesilova Z, Ozel AM, Erdil A, Yaman H, et al. Leptin levels in the acute stage of ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol.* aprile 2004;19(4):429–32.
293. Barbier M, Vidal H, Desreumaux P, Dubuquoy L, Bourreille A, Colombel JF, et al. Overexpression of leptin mRNA in mesenteric adipose tissue in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol Clin Biol.* novembre 2003;27(11):987–91.
294. Sitaraman S, Liu X, Charrier L, Gu LH, Ziegler TR, Gewirtz A, et al. Colonic leptin: source of a novel proinflammatory cytokine involved in IBD. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* aprile 2004;18(6):696–8.
295. Hoda MR, Scharl M, Keely SJ, McCole DF, Barrett KE. Apical leptin induces chloride secretion by intestinal epithelial cells and in a rat model of acute chemotherapy-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* maggio 2010;298(5):G714–721.
296. Munger KL, Bentzen J, Laursen B, Stenager E, Koch-Henriksen N, Sørensen TIA, et al. Childhood body mass index and multiple sclerosis risk: a long-term cohort study. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl.* settembre 2013;19(10):1323–9.
297. Hedström AK, Olsson T, Alfredsson L. High body mass index before age 20 is associated with increased risk for multiple sclerosis in both men and women. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl.* settembre 2012;18(9):1334–6.
298. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* settembre 2000;72(3):690–3.
299. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA.* 20 dicembre 2006;296(23):2832–8.
300. Kraszula L, Jasińska A, Eusebio MO, Kuna P, Głąbiński A, Pietruczuk M. Evaluation of the relationship between leptin, resistin, adiponectin and natural regulatory T cells in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurol Neurochir Pol.* 2012;46(1):22–8.
301. Piccio L, Stark JL, Cross AH. Chronic calorie restriction attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Leukoc Biol.* ottobre 2008;84(4):940–8.
302. Matarese G, Di Giacomo A, Sanna V, Lord GM, Howard JK, Di Tuoro A, et al. Requirement for leptin in the induction and progression of autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 maggio 2001;166(10):5909–16.
303. Matarese G, Carrieri PB, La Cava A, Perna F, Sanna V, De Rosa V, et al. Leptin increase in multiple sclerosis associates with reduced number of CD4(+)CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 5 aprile 2005;102(14):5150–5.
304. Harder T, Roepke K, Diller N, Stechling Y, Dudenhausen JW, Plagemann A. Birth weight, early weight gain, and subsequent risk of type 1 diabetes: systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 15 giugno 2009;169(12):1428–36.
305. Oge A, Isganaitis E, Jimenez-Chillaron J, Reamer C, Faucette R, Barry K, et al. In utero undernutrition reduces diabetes incidence in non-obese diabetic mice. *Diabetologia.* maggio 2007;50(5):1099–108.

306. Verbeeten KC, Elks CE, Daneman D, Ong KK. Association between childhood obesity and subsequent Type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* gennaio 2011;28(1):10–8.
307. Knerr I, Wolf J, Reinehr T, Stachow R, Grabert M, Schober E, et al. The «accelerator hypothesis»: relationship between weight, height, body mass index and age at diagnosis in a large cohort of 9,248 German and Austrian children with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia.* dicembre 2005;48(12):2501–4.
308. Luna R, Garcia-Mayor RV, Lage M, Andrade MA, Barreiro J, Pombo M, et al. High serum leptin levels in children with type 1 diabetes mellitus: contribution of age, BMI, pubertal development and metabolic status. *Clin Endocrinol (Oxf).* novembre 1999;51(5):603–10.
309. Kirel B, Doğruel N, Korkmaz U, Kiliç FS, Ozdamar K, Uçar B. Serum leptin levels in type 1 diabetic and obese children: relation to insulin levels. *Clin Biochem.* agosto 2000;33(6):475–80.
310. Verrotti A, Basciani F, Morgese G, Chiarelli F. Leptin levels in non-obese and obese children and young adults with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* luglio 1998;139(1):49–53.
311. Leth H, Andersen KK, Frystyk J, Tarnow L, Rossing P, Parving HH, et al. Elevated levels of high-molecular-weight adiponectin in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* agosto 2008;93(8):3186–91.
312. Geyikli I, Keskin M, Kör Y, Akan M. Increased resistin serum concentrations in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 10 settembre 2013;5(3):189–93.
313. Wijesekara N, Krishnamurthy M, Bhattacharjee A, Suhail A, Sweeney G, Wheeler MB. Adiponectin-induced ERK and Akt phosphorylation protects against pancreatic beta cell apoptosis and increases insulin gene expression and secretion. *J Biol Chem.* 29 ottobre 2010;285(44):33623–31.
314. Matarese G, Sanna V, Lechler RI, Sarvetnick N, Fontana S, Zappacosta S, et al. Leptin accelerates autoimmune diabetes in female NOD mice. *Diabetes.* maggio 2002;51(5):1356–61.
315. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev.* 2014;13(4–5):391–7.
316. Nyrnes A, Jorde R, Sundsfjord J. Serum TSH is positively associated with BMI. *Int J Obes* 2005. gennaio 2006;30(1):100–5.
317. Michalaki MA, Vagenakis AG, Leonardou AS, Argentou MN, Habeos IG, Makri MG, et al. Thyroid function in humans with morbid obesity. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc.* gennaio 2006;16(1):73–8.
318. Danforth E, Burger A. The role of thyroid hormones in the control of energy expenditure. *Clin Endocrinol Metab.* novembre 1984;13(3):581–95.
319. Oge A, Bayraktar F, Saygili F, Guney E, Demir S. TSH influences serum leptin levels independent of thyroid hormones in hypothyroid and hyperthyroid patients. *Endocr J.* aprile 2005;52(2):213–7.
320. Marzullo P, Minocci A, Tagliaferri MA, Guzzaloni G, Di Blasio A, De Medici C, et al. Investigations of thyroid hormones and antibodies in obesity: leptin levels are associated with thyroid autoimmunity

- independent of bioanthropometric, hormonal, and weight-related determinants. *J Clin Endocrinol Metab.* agosto 2010;95(8):3965–72.
321. Civieri G, Iop L, Tona F. Antibodies against Angiotensin II Type 1 and Endothelin 1 Type A Receptors in Cardiovascular Pathologies. *Int J Mol Sci.* 15 gennaio 2022;23(2):927.
322. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol.* gennaio 2007;292(1):C82-97.
323. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Féry I, Charru A, Clauser E, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertens Dallas Tex* 1979. luglio 1994;24(1):63–9.
324. Wierzbicki AS, Lambert-Hamill M, Lumb PJ, Crook MA. Renin-angiotensin system polymorphisms and coronary events in familial hypercholesterolemia. *Hypertens Dallas Tex* 1979. novembre 2000;36(5):808–12.
325. Bedecs K, Elbaz N, Sutren M, Masson M, Susini C, Strosberg AD, et al. Angiotensin II type 2 receptors mediate inhibition of mitogen-activated protein kinase cascade and functional activation of SHP-1 tyrosine phosphatase. *Biochem J.* 15 luglio 1997;325 ( Pt 2)(Pt 2):449–54.
326. Wang Y, Del Borgo M, Lee HW, Baraldi D, Hirmiz B, Gaspari TA, et al. Anti-fibrotic Potential of AT2 Receptor Agonists. *Front Pharmacol.* 2017;8:564.
327. Horinouchi T, Terada K, Higashi T, Miwa S. Endothelin receptor signaling: new insight into its regulatory mechanisms. *J Pharmacol Sci.* 2013;123(2):85–101.
328. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Intern Med.* 15 marzo 1991;114(6):464–9.
329. Philogene MC, Johnson T, Vaught AJ, Zakaria S, Fedarko N. Antibodies against Angiotensin II Type 1 and Endothelin A Receptors: Relevance and pathogenicity. *Hum Immunol.* agosto 2019;80(8):561–7.
330. Wassmann S, Stumpf M, Strehlow K, Schmid A, Schieffer B, Böhm M, et al. Interleukin-6 induces oxidative stress and endothelial dysfunction by overexpression of the angiotensin II type 1 receptor. *Circ Res.* 5 marzo 2004;94(4):534–41.
331. Sek AC, Xie Z, Terai K, Long LM, Nelson C, Dudek AZ, et al. Endothelial Expression of Endothelin Receptor A in the Systemic Capillary Leak Syndrome. *PloS One.* 2015;10(7):e0133266.
332. Cho JJ, Hoher B, Herbst H, Jia JD, Ruehl M, Hahn EG, et al. An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis. *Gastroenterology.* giugno 2000;118(6):1169–78.
333. Becker MO, Kill A, Kutsche M, Guenther J, Rose A, Tabeling C, et al. Vascular receptor autoantibodies in pulmonary arterial hypertension associated with systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 ottobre 2014;190(7):808–17.
334. Silva-Filho JL, Caruso-Neves C, Pinheiro AAS. Angiotensin II type-1 receptor (AT1R) regulates expansion, differentiation, and functional capacity of antigen-specific CD8+ T cells. *Sci Rep.* 26 ottobre 2016;6:35997.

335. Hiemann NE, Meyer R, Wellnhofer E, Schoenemann C, Heidecke H, Lachmann N, et al. Non-HLA antibodies targeting vascular receptors enhance alloimmune response and microvasculopathy after heart transplantation. *Transplantation*. 15 novembre 2012;94(9):919–24.
336. Cozzi E, Calabrese F, Schiavon M, Feltracco P, Seveso M, Carollo C, et al. Immediate and Catastrophic Antibody-Mediated Rejection in a Lung Transplant Recipient With Anti-Angiotensin II Receptor Type 1 and Anti-Endothelin-1 Receptor Type A Antibodies. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. febbraio 2017;17(2):557–64.
337. Banasik M, Boratyńska M, Kościelska-Kasprzak K, Kamińska D, Zmonarski S, Mazanowska O, et al. Non-HLA antibodies: angiotensin II type 1 receptor (anti-AT1R) and endothelin-1 type A receptor (anti-ETAR) are associated with renal allograft injury and graft loss. *Transplant Proc*. ottobre 2014;46(8):2618–21.
338. Ohe H, Uchida Y, Yoshizawa A, Hirao H, Taniguchi M, Maruya E, et al. Association of anti-human leukocyte antigen and anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies with liver allograft fibrosis after immunosuppression withdrawal. *Transplantation*. 27 novembre 2014;98(10):1105–11.
339. Zhang X, Mirocha J, Aintablian T, Dimbil S, Moriguchi J, Arabia F, et al. Revealing a new mode of sensitization induced by mechanical circulatory support devices: Impact of anti-AT1 R antibodies. *Clin Transplant*. febbraio 2018;32(2).
340. Urban M, Slavcev A, Gazdic T, Ivak P, Besik J, Netuka I. The impact of angiotensin II type 1 receptor antibodies on post-heart transplantation outcome in Heart Mate II bridged recipients. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. marzo 2016;22(3):292–7.
341. Li W, Li Z, Chen Y, Li S, Lv Y, Zhou W, et al. Autoantibodies targeting AT1 receptor from patients with acute coronary syndrome upregulate proinflammatory cytokines expression in endothelial cells involving NF- $\kappa$ B pathway. *J Immunol Res*. 2014;2014:342693.
342. Tian M, Sheng L, Huang P, Li J, Zhang CH, Yang J, et al. Agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor increase in unstable angina patients after stent implantation. *Coron Artery Dis*. dicembre 2014;25(8):691–7.
343. Gant NF, Daley GL, Chand S, Whalley PJ, MacDonald PC. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest*. novembre 1973;52(11):2682–9.
344. Wallukat G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jüpner A, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest*. aprile 1999;103(7):945–52.
345. Zhou CC, Zhang Y, Irani RA, Zhang H, Mi T, Popek EJ, et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nat Med*. agosto 2008;14(8):855–62.
346. Abadir PM, Jain A, Powell LJ, Xue QL, Tian J, Hamilton RG, et al. Discovery and Validation of Agonistic Angiotensin Receptor Autoantibodies as Biomarkers of Adverse Outcomes. *Circulation*. 31 gennaio 2017;135(5):449–59.
347. Fu ML, Herlitz H, Schulze W, Wallukat G, Micke P, Eftekhari P, et al. Autoantibodies against the angiotensin receptor (AT1) in patients with hypertension. *J Hypertens*. luglio 2000;18(7):945–53.

348. Rossitto G, Regolisti G, Rossi E, Negro A, Nicoli D, Casali B, et al. Elevation of angiotensin-II type-1-receptor autoantibodies titer in primary aldosteronism as a result of aldosterone-producing adenoma. *Hypertens Dallas Tex* 1979. febbraio 2013;61(2):526–33.
349. Piazza M, Seccia TM, Caroccia B, Rossitto G, Scarpa R, Persichitti P, et al. AT1AA (Angiotensin II Type-1 Receptor Autoantibodies): Cause or Consequence of Human Primary Aldosteronism? *Hypertens Dallas Tex* 1979. ottobre 2019;74(4):793–9.
350. Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, et al. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. marzo 2011;70(3):530–6.
351. Budding K, van de Graaf EA, Hoefnagel T, Kwakkel-van Erp JM, van Kessel DA, Dragun D, et al. Anti-ETAR and anti-AT1R autoantibodies are elevated in patients with endstage cystic fibrosis. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc*. gennaio 2015;14(1):42–5.
352. Miedema J, Schreurs M, van der Sar-van der Brugge S, Paats M, Baart S, Bakker M, et al. Antibodies Against Angiotensin II Receptor Type 1 and Endothelin A Receptor Are Associated With an Unfavorable COVID19 Disease Course. *Front Immunol*. 2021;12:684142.