



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

Wydział Lekarski

**Wpływ hiperglikemii na zaburzenia szlaku PI3K w adipocytach
wisceralnych**

mgr inż. Ewa Świdarska

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem

Prof. dr hab. n. med. Janusza Szemraja

w Zakładzie Biochemii Medycznej

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź, 2022

9. Streszczenie

Hiperglikemia, charakterystyczny element T2DM, ma szkodliwy wpływ na różne tkanki aktywne metabolicznie, m.in. na tkankę tłuszczową. Badania opisane w tej pracy przeprowadzono na ludzkich trzewnych preadipocyty różnicowanych do adipocytów w warunkach imitujących stany normoglikemii (NG), hiperglikemii (HG) i HG przerywanej. W pierwszym etapie określono, jak te różne warunki glikemiczne wpływają na proces adipogenezy (ADG). Uzyskane wyniki pokazały istotne zmiany w morfologii i wzorze ekspresji głównych markerów ADG (PPAR γ i CEBP α) wywołane przewlekłą i przerywaną HGw czasie ADG. Dodatkowo, przeanalizowano ekspresję miRów, których celem jest PPAR γ i CEBP α , (odpowiednio miR-34a-5p i miR-137-3p).

W kolejnym etapie, określono jak różne warunki glikemiczne wpływają na ekspresję kluczowych biomolekuł sygnalizacyjnych szlaku IR/PI3K/AKT na różnych etapach adipogenezy. Szlak PI3K/AKT jest niezbędny do utrzymania prawidłowego wychwytu glukozy z surowicy do adipocytów. Jego upośledzenie jest ściśle związane ze stanem insulinooporności. Z przeprowadzonych badań wynika, że zarówno przewlekła, jak i przerywana HG wywołują istotne zmiany (głównie podwyższenie) ekspresji zarówno genów, jak i białek analizowanych komponentów szlaku PI3K/AKT podczas ADG. Co więcej, zaobserwowano, że poziom ekspresji zarówno na poziomie mRNA, jak i białka jest bardziej zależny od zdarzeń specyficznych dla danego etapu ADG niż od długości okresu ekspozycji na HG. Uzyskane wyniki pozwalają również sugerować, że adipocyty mają zdolność adaptacji do bodźca jakim jest HG (nawet jeśli jest on utrzymywany przez cały proces ADG).

W pracy wskazano również, że zmiany w sygnalizacji PI3K/AKT mogą być częściowo wywołane przez miRy. Przeanalizowano ekspresję miRów wskazanych jako epigenetyczne regulatory ekspresji badanych biomolekuł sygnalizacji insuliny, a mianowicie miR-29a-3p, miR143-3p, miR-145-5p, miR-152-3p, miR-186-5p, miR-370-3p i miR-374b-5p.

Interesującym wnioskiem z przeprowadzonych badań jest to, że zmiany wywołane przejściową HG nie zawsze są w pełni odwracalne. Jest to ciekawe odkrycie dotyczące biologii patogenezy adipocytów i T2DM. W rezultacie praca wnosi nowy aspekt do zrozumienia zjawiska pamięci glikemicznej lub metabolicznej, który został pierwotnie opisany w związku z wpływem chronicznej i przerywanej glikemii na komórki śródbłonna.

10. Summary

Hyperglycemia, as a characteristic element of the natural history of T2DM, has a detrimental impact on different metabolically active tissues, among others adipose tissue. In my PhD thesis, I present an investigation in which human visceral preadipocytes are differentiated into adipocytes using differentiation protocols in which the glucose concentrations are varied to mimic states of normoglycemia, hyperglycemia, and intermittent hyperglycemia. Firstly, I tried to explore how those different glycaemic conditions affect the process of adipogenesis (ADG). Results show morphological changes and expression pattern of main adipogenesis markers (PPAR γ and CEBP α) evoked by chronic and intermittent hyperglycemia in comparison to normoglycemia during visceral ADG. What is more, I analyzed expression of miRs targeting PPAR γ and CEBP α , respectively miR-34a-5p and miR-137-3p. The different “glycaemic” protocols yielded adipocytes with different morphologic features, and these were associated with different modalities of expression of PPAR γ and CEBP α .

Secondly, I tried to explore how those different glycaemic conditions affect the expression of crucial PI3K/AKT signaling biomolecules at different adipogenesis stages. PI3K/AKT pathway is essential for maintaining proper glucose uptake from serum to adipocytes. Its impairment is strictly connected to the insulin resistance state. My research shows that both chronic and intermittent hyperglycemia evoked significant changes (mostly upregulation) of both gene and protein expression of analyzed PI3K/AKT pathway components in comparison to normoglycemia during visceral ADG. What is more, I observed that expression level both at mRNA and protein level is more dependent on stage-specific events than the length of the period of HG exposure. It may be also suggested that adipocytes have the ability to adapt to HG stimulus (even if the stimulus is maintained during a whole ADG process).

In my work, I also indicate that the changes in PI3K/AKT signaling may be partially evoked by miRs. I analyzed the expression of miRs indicated as epigenetic regulators of the expression of the tested biomolecules of insulin signaling, namely miR-29a-3p, miR143-3p, miR-145-5p, miR-152-3p, miR-186-5p, miR-370-3p, and miR-374b-5p. The interesting conclusion of the study is that intermittent hyperglycemia induced changes that are not always fully reversible while comparing to NG-cultured cells, which constitutes an intriguing finding concerning the biology of Ads and T2DM pathogenesis. As a result, my study brings a novel aspect to the understanding of the phenomenon of glycaemic or metabolic memory, that was

initially developed in relation to the effects of sustained or intermittent glycemia on endothelial cells.