Streszczenie

Zaburzenia procesu adipogenezy (ADG) wisceralnych preadipocytów (pAds) prowadzą do

hipertrofii, hiperplazji i niedotlenienia trzewnej tkanki tłuszczowej (VAT). VAT wydziela cytokiny

prozapalne, stanowiąc niezależny czynnik rozwoju insulinooporności (IR), co sprzyja indukcji stanu

przedcukrzycowego (prediabetes, w tym IFG oraz IGT) i cukrzycy typu 2 (T2DM). miRNA to

wyrafinowane molekuły maszynerii epigenetycznej. Poziom ekspresji miRNA jest modulowany przez

białka wysoce istotne dla patogenezy chorób związanych z otyłością i hiperglikemią (HG), takich jak

Sirt1 czy p53. Do głównych celów tegoż badania należały : (i) ocena poziomu ekspresji 78 cząsteczek

miRNA w trakcie 3-etapowej ADG pAds wisceralnych linii HPA-v traktowanych lub nie HG chroniczną

i przerywaną (14 wariantów hodowlanych p/Ads), (ii) ocena poziomu ekspresji 75 cząsteczek miRNA w próbkach VAT pobranych od pacjentów (N = 38) ze stanem przedcukrzycowym (IFG), cukrzycą (T2DM) oraz osób z prawidłową glikemią za pomocą Custom TLDA miRNA Cards i metody qPCR.

HG wpłynęła na wzorce ekspresji miRNA podczas ADG oraz, zarówno chroniczna jak i przerywana,

na etapie pAds, zróżnicowanych i dojrzałych Ads w porównaniu do NG. Zmiany wywołane ekspozycją

na HG podczas jednego etapu AGD przypominały te obserwowane przy przewlekłej HG, stąd wyniki

zdają się sugerować, że miRNA mogą być cząsteczkami uczestniczącymi w zapamiętywaniu efektu

zależnego od HG w wisceralnych pAds. Udało się również wyodrębnić co najmniej 15 cząsteczek

miRNA (miR-376c-3p, miR-140-5p, miR-151a-5p, miR-374b-5p, miR-193b-3p, miR-106b-5p, miR-16-

5p, miR-93-3p, let-7g-5p, miR-193a-5p, miR-26b-5p, miR-29a-3p, miR-93-3p, miR-484), których

ekspresja uległa zmianie podczas ADG w warunkach NG oraz HG oraz w odpowiedzi na jeden lub

chroniczny bodziec HG na 3 etapach ADG. Analizując za pomocą narzędzi statystycznych wyniki

uzyskane dla próbek VAT, postanowiłam gruntownie przeanalizować wyniki uzyskane wyłącznie dla

kobiet (N=26). To pozwoliło mi na wyłonienie 15 cząsteczek miRNA o zmienionym poziomie ekspresji

spośród kobiet z grup NG, T2DM, IFG (miR-10a-5p, let-7d-5p, miR-532-5p, miR-127-3p, miR-125b-5p,

let-7a-5p, let-7e-5p, miR-199a-3p, miR-365a-3p, miR-99a-5p, miR-100-5p, miR-342-3p, miR-146b-5p,

miR-204-5p, miR-409-3p). Ekspresja większości znacząco zmienionych miRNA była podobnie

podwyższona w VAT kobiet z T2DM i IFG w porównaniu z pacjentkami z NG, w tym dodatnio

skorelowana z poziomem FPG i HbA1c, ale nieskorelowana z WHR/BMI. Co istotne, miR-10a-5p okazał się być molekułą wykazującą interesujące zmiany ekspresji uzyskane na modelu HPA-v (podobne zmiany ekspresji wywołane wpływem chronicznej i przerywanej HG), jak również w próbkach VAT (podobny stopień podwyższenia ekspresji tegoż miRNA u pacjentek z grupy IFG oraz T2DM w porównaniu do NG, najbardziej zmieniona ekspresja miRNA ze wszystkich badanych cząsteczek w VAT). Analizy in silico przeprowadzone zarówno na wynikach in vitro jak i ex vivo wykazały, że istotnie zmienione miRNA wydają się być powiązane ze stresem oksydacyjnym, zapaleniem, sygnalizacją insuliny, sygnalizacją p53 i sirtuiny 1, naprawą DNA, metabolizmem lipidów oraz sygnalizacją adipocytokin i cytokin.

Podsumowując, uzyskane wyniki mogą sugerować, że HG wykorzystuje mechanizm epigenetyczny związany z interferencją miRNA do zaburzania ADG wisceralnej poprzez regulację licznych genów docelowych, w ten sposób promując dalszą dysfunkcję tkanki trzewnej. VAT jako tkanka uwalniająca cząsteczki miRNA może dodatkowo wpływać nawet na oddalone organy, w ten sposób stymulować progresję fenotypu cukrzycowego i powikłań cukrzycowych. Dalsze badania mogą być ciekawym wkładem do potwierdzenia hipotezy o występowaniu w komórkach wisceralnych zjawiska dobrze znanego komórkom endotelialnym, a mianowicie, pamięci metabolicznej. Biorąc pod uwagę jak często w tym badaniu zmiany miRNA zostały powiązane z sygnalizacją białka p53, szczególnie istotne może być zbadanie wpływu p53 na globalne zmiany ekspresji miRNA pod wpływem HG.