



UNIwersytet
MEDYCZNY
W ŁÓDZI

UNIwersytet MEDYCZNY W ŁÓDZI

Wydział Nauk o Zdrowiu

Modyfikacje epigenetyczne genów związanych z procesem zapalnym i insulinoopornością w wisceralnych adipocytach hodowanych w hiperglikemii i wisceralnej tkance tłuszczowej pacjentów z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej

mgr Adam Wróblewski

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem

Prof. dr hab. n. med. Janusza Szemraja

w Zakładzie Biochemii Medycznej

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź, 2023

8. Streszczenie

Znaczenie nadmiernej akumulacji wisceralnej tkanki tłuszczowej (VAT) w patogenezie zaburzeń gospodarki węglowodanowej – insulinooporności i cukrzycy typu 2 (T2DM) zdobywa coraz większą uwagę naukowców za sprawą potencjału endokrynnego VAT oraz charakterystycznego dla nadmiernie rozrośniętej VAT przewlekłego stanu zapalnego.

W niniejszej rozprawie opisano wyniki badań w modelu adipogenezy wisceralnych preadipocytów człowieka (HPA-v) wystawionych na działanie chronicznej hiperglikemii (ChHG) lub przejściowej hiperglikemii (PrHG), oraz wyniki badań na VAT pacjentów z T2DM i nieprawidłową glikemią na czczo (IFG). W pracy przeanalizowano ekspresję genów związanych z procesem zapalnym i insulinoopornością (m.in. *IL6*, *ADIPOQ*, *NFKB1*, *INSR*, *TIGAR*) na poziomie mRNA oraz poziom białkowej ekspresji adipokin - interleukiny 6 (IL-6) i adiponektyny (APN). Zbadano także mechanizmy epigenetyczne: potranslacyjne modyfikacje histonów (PTM) w regionach promotorowych genów (tylko *IL6* i *ADIPOQ*) oraz mikroRNA (miRNA) potencjalnie regulujące ekspresję badanych genów. Badania dotyczące genów *IL6* i *ADIPOQ* przeprowadzono jedynie na modelu *in vitro*. Badania na modelu komórkowym wykazują, że zarówno ChHG, jak i PrHG indukują zmiany ekspresji badanych genów (np.: *NFKB1*, *INSR*, *TIGAR*), w tym także adipokin IL-6 i APN, które są zorientowane na zaostrzenie stanu zapalnego oraz upośledzenie insulinooporności. Można zatem stwierdzić, że HG może indukować w VAT zmiany ekspresji genów, które mogą przyczyniać się do powstawania przewlekłego podprogowego stanu zapalnego oraz insulinooporności. Zaobserwowane zmiany w PTM i miRNA niejednokrotnie odzwierciedlały zaburzoną przez ChHG i PrHG ekspresję badanych genów (w szczególności adipokin, np. IL-6). Stąd, badane mechanizmy epigenetyczne PTM i miRNA mogą być przynajmniej częściowo odpowiedzialne za zmiany ekspresji genów kluczowych dla procesów zapalnych i insulinooporności indukowane przez HG. Z drugiej strony, wyraźne podobieństwo zmian wywołanych przez ChHG i PrHG stanowi ważną obserwację sugerującą możliwość wystąpienia efektu pamięci metabolicznej adipocytów wisceralnych, której ogniwem mogą być mechanizmy epigenetycznej regulacji ekspresji genów.

Wyłącznie w VAT pacjentów z T2DM badania wskazały m.in. na podwyższenie ekspresji *NFKB1* i *TIGAR*, sprzyjające nasilonej ekspresji cytokin prozapalnych, a także możliwość wystąpienia zmian w metabolizmie glukozy, spowodowanych np. w odpowiedzi na stres oksydacyjny. Zwiększona ekspresja miR-10b-5p, miR-132-3p, miR-26a-5p, miR-20a-5p i miR-21-5p nie odzwierciedlała natomiast ekspresji potencjalnych genów docelowych oraz

wyników uzyskanych *in vitro*. Mimo to, zakłócenie ekspresji tych miRNA sugeruje, że w VAT osób z T2DM regulacja procesów z nimi powiązanych, np.: procesów zapalnych, insulinowrażliwości oraz metabolizmu glukozy, może zostać zaburzona. W związku z tym, przedstawione badania sugerują cząsteczki regulujące ekspresję adipokin, a także grupę miRNA wrażliwych na HG, jako potencjalnych biomarkerów zaburzonego metabolizmu VAT w zaburzeniach gospodarki węglowodanowej.

9. Summary

Visceral adipose tissue (VAT) is a potent endocrine tissue subjected to chronic inflammation upon excessive accumulation, therefore, the role of excessive VAT in pathogenesis of glucose metabolism disorders – insulin resistance (IR) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) is gaining scientific attention.

This dissertation describes research conducted on: i) the model of adipogenesis of human visceral preadipocytes (HPA-v) exposed to chronic hyperglycemia (ChHG) or transient hyperglycemia (PrHG); ii) VAT of subjects with T2DM and impaired fasting glucose (IFG). The research included analysis of mRNA expression of the genes related to inflammation and IR (e.g. *IL6*, *ADIPOQ*, *NFKB1*, *INSR*, *TIGAR*) and analysis of protein expression of adipokines – interleukin 6 (IL-6) and adiponectin (APN). Analysis of epigenetic mechanisms included: posttranslational histone modifications (PTMs) in promoter regions (only *IL6* and *ADIPOQ*) and microRNAs (miRNAs) which potentially regulate the expression of the studied genes. The *in vitro* studies showed that either ChHG or PrHG alter expression of the studied genes (e.g. *NFKB1*, *INSR*, *TIGAR*) including adipokines, such as IL-6 and APN towards exacerbated inflammation and blunted insulin sensitivity. Thus, we could conclude, that hyperglycemia may evoke changes of gene expression in VAT, which may promote low-grade chronic inflammation and IR. Moreover, the observed alterations of PTMs and miRNAs reflected the gene expression disturbed by ChHG and PrHG (especially for adipokines, e.g. IL-6). Thus, the studied PTM and miRNAs may be, at least in part, responsible for HG-altered expression of the crucial genes related to inflammation and IR. On the other hand, influence of ChHG and PrHG on visceral adipocytes were clearly similar, suggesting the existence of effect of metabolic memory, which could be exerted with contribution of epigenetic mechanisms.

Exclusively for VAT of subjects with T2DM, the analyses presented an upregulated expression of *NFKB1* and *TIGAR*, which could promote augmented expression of pro-inflammatory cytokines and altered glucose metabolism, e.g. in response to oxidative stress. Increased expression of miR-10b-5p, miR-132-3p, miR-26a-5p, miR-20a-5p and miR-21-5p did not reflect the expression of their putative target and the results of *in vitro* research. Nevertheless, disrupted expression of these miRNAs suggests deregulation of the processes related to these miRNAs, e.g.: inflammation, insulin sensitivity, metabolism of glucose, in VAT of patients with T2DM. Therefore, the described research suggest miRNAs regulating adipokine expression, along with a set of HG-sensitive miRNAs, as possible biomarkers of dysregulated metabolism of VAT in glucose metabolism disorders.