

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

MEDICAL UNIVERSITY OF GDANSK



Aleksandra Czumaj

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Zmiany metabolizmu lipidów w hepatocytach i adipocytach
indukowane zaburzeniami profilu kwasów tłuszczowych**

PhD THESIS

**Changes in lipid metabolism in hepatocytes and adipocytes induced
by altered fatty acid profile**

Promotor/Supervisor

dr hab. Tomasz Śledziński

Gdańsk, 2021

3. Streszczenie

Kwasy tłuszczowe (FA) są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania wszystkich organizmów. Stanowią one zróżnicowaną grupę związków, które w zależności od swojej budowy mogą wywierać różny wpływ na metabolizm. Zaburzenia w składzie jakościowym i ilościowym FA w surowicy (zaburzenia profilu FA) mogą mieć znaczący wpływ na takie zjawiska metaboliczne jak: regulacja ekspresji genów związanych z metabolizmem lipidów, stres oksydacyjny, insulinooporność i procesy zapalne, co może prowadzić do wzrostu ryzyka wystąpienia cukrzycy, nadciśnienia tętniczego czy choroby wieńcowej. Zaburzenia profilu FA mogą współwystępować z różnymi jednostkami chorobowymi, w tym z przewlekłą chorobą nerek (CKD). Do charakterystycznych dla CKD zaburzeń metabolicznych należy dyslipidemia – głównie wzrost poziomu triacylogliceroli (TAG) i obniżony poziom cholesterolu HDL. Oprócz tego, badania naszego zespołu wykazały, że wraz z postępem choroby w surowicy pacjentów z CKD wzrasta poziom jednonienasyconych FA (MUFA), natomiast poziom wielonienasyconych FA n-3 (PUFA n-3) i wielonienasyconych FA n-6 (PUFA n-6) obniża się. Dodatkowo u pacjentów z CKD zidentyfikowano również podwyższony poziom kwasu metylenoheksadekanowego (CPOA2H). Samo stwierdzenie nieprawidłowości w profilu FA nie może jednak stanowić dowodu na bezpośredni wpływ tych zmian na metabolizm. Dlatego celem tej pracy było zbadanie jakie konsekwencje metaboliczne niosą z sobą zmiany profilu FA obserwowane u pacjentów z CKD, w tym czy zaburzenia profilu FA są odpowiedzialne za zmianę ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm lipidów i czy w ten sposób mogą przyczyniać się do progresji choroby lub/oraz zwiększać ryzyko chorób towarzyszących.

Badania prowadzono w modelu *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowych hepatocytów (HepG2) i różnicujących się do adipocytów fibroblastów (3T3-L1). Hodowle suplementowane były pojedynczymi FA w zmiennym stężeniu oraz FA ekstrahowanymi z surowicy pacjentów z CKD. Do analizy wybrano geny związane z metabolizmem lipidów kodujące enzymy i czynniki transkrypcyjne zaangażowane w procesy lipogenezy, syntezy TAG, powstawania lipoprotein oraz gen kodujący leptynę. Badania prowadzono na poziomie mRNA i białka.

Badania prowadzone w ramach rozprawy doktorskiej pokazały, że zmiany profilu FA obserwowane u pacjentów z CKD, takie jak obniżenie poziomu PUFA (zarówno n-3 jak i n-6), wzrost poziomu MUFA i wzrost poziomu CPOA2H, mogą wpływać na poziomy ekspresji genów zaangażowanych w syntezę FA, syntezę TAG, uwalnianie lipoprotein z hepatocytów i syntezę leptyny w adipocytach.

Podsumowując, nasze badania pokazują, że postępujące zmiany profilu FA w surowicy pacjentów w przebiegu CKD mogą przyczynić się do hipertriglicydemii związanej z CKD poprzez wpływ na ekspresję genów syntezy i uwalniania lipidów w hepatocytach. Ponadto, zmiany profilu FA w surowicy obserwowane w przebiegu CKD mogą przyczyniać się do podwyższonego poziomu leptyny we krwi, poprzez indukcję ekspresji genu kodującego tą adipokinę w adipocytach.

4. Abstrakt

Fatty acids (FA) are essential for the proper functioning of all organisms. They constitute a diverse group of compounds that, depending on their structure, may have different effects on metabolism. Disturbances in the qualitative and quantitative composition of serum FA (FA profile) may have a significant impact on such metabolic phenomena as regulation of the genes expression related to lipid metabolism, oxidative stress, insulin resistance, and the inflammatory processes, which may lead to an increased risk of diabetes, arterial hypertension or coronary artery disease. FA profile abnormalities can coexist with a variety of disease entities, including chronic kidney disease (CKD). One of the characteristic metabolic disorders in the course of CKD is dyslipidemia - mainly an increased level of triacylglycerols (TAG) and a decreased level of HDL cholesterol are reported. Our team's research has shown that as the disease progresses, the level of monounsaturated FA (MUFA) increases, while the level of n-3 polyunsaturated FA (n-3 PUFA) and n-6 polyunsaturated FA (n-6 PUFA) decreases in the serum of patients with CKD. In addition, in the patient's serum an increased level of an atypical FA - cyclopropaneoctanoic acid 2-hexyl (CPOA2H) was identified.

However, the mere finding of abnormalities in the FA profile cannot provide evidence of a direct metabolic effect of these changes. Therefore, the aim of this study was to investigate the metabolic consequences of the changes in the FA profile observed in patients with CKD, including whether disturbances of the FA profile are responsible for the alteration of the expression of genes involved in lipid metabolism and thus may contribute to disease progression and/or increase the risk of comorbid diseases.

The study was carried out in *in vitro* model using hepatocyte (HepG2) and fibroblast differentiating to adipocytes (3T3-L1) cell lines. The cells were supplemented with single FA in varying concentrations or with FAs isolated from the patient's serum. The expression of the genes related to lipid metabolism, encoding enzymes, and transcription factors involved in lipogenesis, TAG synthesis, lipoprotein formation, and leptin genes was analyzed. The research was carried out on the mRNA and protein levels.

The research shows that changes in the FA profile observed in patients with CKD, such as a decrease in PUFA levels (both n-3 and n-6), an increase in MUFA content, an increase in CPOA2H, may affect the expression of genes involved in the synthesis of FA, the synthesis of TAG, the release of lipoproteins from hepatocytes, and the synthesis of leptin in adipocytes.

In conclusion, this research shows that progressive changes in the serum FA profile of CKD patients may contribute to CKD-associated hypertriglyceridemia by affecting the expression of genes for lipid synthesis and release in hepatocytes. Moreover, the changes in the serum FA profile observed in the course of CKD may contribute to the elevated level of leptin in blood by inducing gene expression of this adipokine in adipocytes.