


Akceptuję poniższe streszczenia pracy doktorskiej Mgr Natalii Pydyn.

Kraków, dnia 17.05.2021r.


.....
/podpis promotora/

Streszczenie

Niealkoholową stłuszczeniową chorobę wątroby (ang. *Non-alcoholic fatty liver disease*; NAFLD) charakteryzuje nadmierne gromadzenie się tłuszczu w obrębie hepatocytów. Do przyczyn rozwoju NAFLD należy nadmierne pobieranie kwasów tłuszczowych przez hepatocyty, obniżony poziom ich oksydacji, wzmożona *de novo* lipogeneza lub zmniejszona synteza i wydzielanie VLDL przez te komórki. U 25% pacjentów NAFLD ulega progresji do niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby charakteryzującego się rozwojem stanu zapalnego i zwłóknieniem tego narządu. Obecnie szacuje się, że 24% światowej populacji cierpi na NAFLD jednak leczenie utrudnia fakt, że do dnia dzisiejszego nie dopuszczono do sprzedaży żadnego leku, który byłby specyficznym stosowany w terapii tej choroby.

Białko MCPIP1 jest RNazą której najszerzej opisaną rolą jest zaangażowanie w kontrolę procesów zapalnych. Ponadto, MCPIP1 odgrywa rolę w metabolizmie lipidów, bowiem hamuje proces adipogenezy, a myszy z delecją genu kodującego to białko charakteryzują się dyslipidemią i zmniejszoną zawartością tłuszczu w organizmie. Z kolei w przypadku urazu niedokrwiennie-reperfuzyjnego wątroby białko MCPIP1 chroni przed rozwojem stanu zapalnego oraz uszkodzeniami tego organu. Biorąc pod uwagę, że w przebiegu NAFLD hepatocyty akumulują nadmierne ilości lipidów, interesującym było określenie roli białka MCPIP1 w tym procesie.

W niniejszej pracy doktorskiej określono jak zmienia się poziom białka Mcpip1 w hepatocytach pod wpływem nadmiernej akumulacji tłuszczu, zarówno w modelach *in vitro*, jak i *in vivo*. Ponadto, zbadano w jaki sposób brak białka Mcpip1 w leukocytach linii mieloidalnej lub komórkach epitelialnych wątroby wpływa na utrzymanie homeostazy wątroby oraz rozwój NAFLD.

W pierwszej części badań wykazano, że pod wpływem krótkotrwałej stymulacji hepatocytów za pomocą oleinianu sodu poziom MCPIP1 wzrasta, jednak 9-dniowa stymulacja tych komórek skutkuje znaczącym spadkiem poziomu tego białka. Podobnie, myszy karmione paszą wysokotłuszczową przez 4-20 tygodni charakteryzują się istotnie niższym poziomem

białka Mcpip1 w hepatocytach, niż osobniki kontrolne. Przy użyciu komórek HepG2 z nadekspresją oraz wyciszeniem genu kodującego białko MCPIP1 oraz mysich pierwotnych hepatocytów z delecją tego genu, określono że pod wpływem białka MCPIP1 wzrasta poziom i aktywność czynnika transkrypcyjnego PPAR γ , który jest regulatorem lipogenezy w wątrobie. Wykazano, że do regulacji tej dochodzi za pośrednictwem białka TXNIP i PGC1- α . W tej części pracy wykazano więc, że akumulacja lipidów przez hepatocyty wiąże się z obniżeniem poziomu białka MCPIP1. Ponadto, białko MCPIP1 może wpływać na proces lipogenezy za pośrednictwem białka PPAR γ .

W kolejnym etapie zbadano jak delecja genu kodującego białko Mcpip1 w komórkach linii mieloidalnej (u myszy Mcpip1^{fl/fl}LysM^{Cre}) bądź komórkach epitelialnych wątroby (u myszy Mcpip1^{fl/fl}Alb^{Cre}) wpływa na homeostazę wątroby i rozwój NAFLD. Myszy obu szczepów były karmione przez 12 tygodni paszą kontrolną lub wysokotłuszczową. Wykazano, że myszy Mcpip1^{fl/fl}LysM^{Cre} spożywające paszę kontrolną rozwijają hipoglikemię i dyslipidemię, mają niską masę ciała oraz charakteryzują się znacznie zmniejszoną ekspresją genów regulujących metabolizm lipidów i glukozy w wątrobie. Zwierzęta te rozwijają również systemowy stan zapalny, przejawiający się podwyższonym stężeniem cytokin w osoczu. Natomiast gdy są karmione paszą wysokotłuszczową nie rozwijają otyłości, nietolerancji glukozy ani stłuszczenia wątroby. Z kolei u myszy Mcpip1^{fl/fl}Alb^{Cre} karmionych paszą kontrolną wykryto jedynie zmniejszoną ekspresję genów regulujących metabolizm glukozy i β -oksydację w wątrobie. Jednakże wykazano, że myszy te rozwijają autoimmunologiczną chorobę wątroby - pierwotne zapalenie dróg żółciowych. Pod wpływem karmienia paszą wysokotłuszczową myszy Mcpip1^{fl/fl}Alb^{Cre} rozwijają otyłość i stłuszczenie wątroby na takim samym poziomie jak myszy kontrolne. Obecność białka Mcpip1 zarówno w leukocytach linii mieloidalnej, jak i komórkach epitelialnych wątroby jest więc kluczowa dla utrzymania homeostazy wątroby.

Summary

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by excessive accumulation of lipids in hepatocytes. Molecular mechanisms leading to NAFLD development include excessive fatty acid uptake by hepatocytes, decreased level of their oxidation, increased *de novo* lipogenesis or decreased VLDL synthesis and secretion. Among NAFLD patients, in 25% of them this disease progress to nonalcoholic steatohepatitis, which is characterized additionally by the development of inflammation and fibrosis of liver. Currently, it is estimated that 24% of the world's population suffers from NAFLD, but treatment is hampered by the fact that specific anti-NAFLD therapy has not been approved yet.

MCPIP1 protein is an RNase which is most widely described as a negative regulator of inflammatory processes. In addition, MCPIP1 plays a role in lipid metabolism because it inhibits the process of adipogenesis and also mice with a deletion of the gene encoding this protein are characterized by dyslipidemia and reduced body fat content. Also, in the case of ischemia-reperfusion injury in liver, MCPIP1 is protective against the inflammation and damage of this organ. Taking into account, that in NAFLD hepatocytes accumulate excessive amounts of lipids, it was interesting to determine the role of the MCPIP1 in this process. In following doctoral dissertation, changes of Mccip1 level in hepatocytes due to excessive fat accumulation were evaluated both in *in vitro* and *in vivo* models. Also, it was investigated how lack of the Mccip1 in myeloid leukocytes or liver epithelial cells influences the maintenance of liver homeostasis and development of NAFLD.

In the first part of the study, it was shown that the level of MCPIP1 increases upon short-term stimulation of hepatocytes with sodium oleate, but stimulation of these cells for 9 days results in a significant decrease of MCPIP1 level. Similarly, mice fed a high-fat diet for 4-20 weeks have significantly lower level of Mccip1 in hepatocytes compared to mice fed chow diet. Using HepG2 cells with overexpression and silencing of the gene coding for MCPIP1 and murine primary hepatocytes with a deletion of this gene, it was determined that the level and activity of PPAR γ protein, which is a regulator of lipogenesis in the liver, is positively regulated by MCPIP1. This regulation is mediated by TXNIP and PGC1- α proteins. Therefore, in this part of the work it was shown that lipid accumulation by hepatocytes is associated with a decrease of Mccip1 level. In addition, MCPIP1 may influence the PPAR γ -mediated lipogenesis process.

In the next step, it was investigated how the deletion of the gene coding for Mccip1 in myeloid leukocytes (in Mccip1^{fl/fl}LysM^{Cre} mice) or liver epithelial cells (in Mccip1^{fl/fl}Alb^{Cre}

mice) influences liver homeostasis and NAFLD development. Mice of both strains were fed with control or high fat diet for 12 weeks. It was shown that $Mcpip1^{fl/fl}LysM^{Cre}$ mice fed with control diet develop hypoglycemia and dyslipidemia, low body weight and have significantly reduced expression of genes coding for proteins which are involved in lipid and glucose metabolism in the liver. These animals also develop systemic inflammation as manifested by increased plasma levels of cytokines. However, when fed high-fat diet, they do not develop obesity, glucose intolerance, or fatty liver. On the other hand, $Mcpip1^{fl/fl}Alb^{Cre}$ mice fed with control diet were characterized only by decreased expression of genes coding for proteins involved in regulation of glucose metabolism and β -oxidation in the liver. However, it was found that these mice develop an autoimmune liver disease – primary biliary cholangitis. When fed high-fat diet, $Mcpip1^{fl/fl}Alb^{Cre}$ mice develop obesity and fatty liver similarly to control mice. Presence of $Mcpip1$ in both myeloid leukocytes and liver epithelial cells is therefore crucial for the maintenance of liver homeostasis.