

Streszczenie

Zaburzenia dotyczące wzajemnych oddziaływań między tkanką tłuszczową a komórkami beta trzustki, określanych mianem osi adipoinsularnej, leżą u podłoża powszechnie występujących, przybierających rozmiary pandemii, chorób cywilizacyjnych - otyłości i cukrzycy. W fizjologicznej regulacji osi adipoinsularnej uczestniczą neuropeptydy, w tym oreksyna A i rezystyna. Pojawiło się pytanie, czy nowo odkryty neuropeptyd, feniksyna (PNX), którego podwyższone stężenia układowe występują u osób otyłych i który uczestniczy w procesie pobierania pokarmu, odgrywa rolę w metabolizmie energetycznym i homeostazie glukozy. Głównym celem niniejszych badań było zatem wyjaśnienie, czy PNX może wpływać na czynność komórek tłuszczowych oraz komórek beta trzustki oraz modulować produkcję mediatorów uwalnianych przez te komórki, takich jak insulina i leptyna.

W publikacji I została potwierdzona rola PNX w fizjologii preadipocytów i adipocytów. W preadipocytach linii 3T3-L1 oraz w pierwotnych preadipocytach szczura zidentyfikowano obecność prekursora mRNA PNX, *Smim20* i przypuszczalnego jej receptora, *Gpr173*. Jednocześnie potwierdzono produkcję i sekrecję PNX przez te komórki. Wykazano też, że PNX zwiększa proliferację preadipocytów. Pod wpływem ekspozycji na PNX dochodziło do zwiększonej ekspresji genów uczestniczących w adipogenezie, *Ppar γ* , *C/ebp β* i *Fabp4*. Zawartość tłuszczu w komórkach była podwyższona, wskazując na stymulację procesu różnicowania, a efekt ten był związany z przekaznictwem sygnału obejmującym szlak cAMP/Epac.

W publikacji II wykazaliśmy, że PNX może mieć istotne znaczenie w homeostazie glukozy, ponieważ oddziałuje ona na komórki beta trzustki i jest przez nie uwalniana. W komórkach linii INS-1E oraz izolowanych wyspach trzustki szczura zidentyfikowano prekursor i receptor PNX. Obecność PNX została potwierdzona w komórkach endokrynnych trzustki szczura wydzielających zarówno glukagon, jak i insulinę. PNX stymulowała proliferację komórek linii INS-1E i min6. Peptyd ten zwiększał ekspresję mRNA insuliny w komórkach INS-1E i zależnie od czasu stymulował wydzielanie insuliny pod wpływem glukozy w tych komórkach i izolowanych wyspach trzustki. Mechanizm molekularny odpowiedzialny za to zjawisko obejmował cAMP/Epac. Wpływ na proliferację komórek i ekspresję insuliny obejmował przekaznictwo sygnału związane z ERK1/2 i AKT. Wykazano ponadto, że glukoza stymuluje wydzielanie PNX z wysp trzustkowych szczura.

W kolejnej serii doświadczeń wykazano hamujący wpływ PNX na ekspresję leptyny w dojrzałych adipocytach linii 3T3-L1. Udokumentowano też stymulujące działanie leptyny na wydzielanie PNX z komórek INS-1E.

Podsumowując, z przeprowadzonych badań wynika, że PNX jest produkowana i wywiera efekty biologiczne w preadipocytach oraz komórkach beta trzustki. PNX wpływa na proliferację tych komórek i stymuluje różnicowanie preadipocytów. Neuropeptyd ten moduluje też ekspresję i sekrecję głównych mediatorów wydzielanych przez adipocyty i komórki beta trzustki, stanowiących ramiona osi adipoinsularnej, leptyny i insuliny. Uzyskane wyniki wskazują zatem, że PNX może być uznana za regulator osi adipoinsularnej.

Abstract

Disturbances of endocrine crosstalk between adipose tissue and pancreatic beta cells referred to as the adipoinsular axis underlie pathophysiology of common lifestyle and world pandemic diseases, obesity and type 2 diabetes mellitus. The axis is functionally regulated by a number of neuropeptides, like orexin A or resistin. Whether the novel neuropeptide - phoenixin (PNX), known to be increased in systemic circulation in obese individuals and involved in feeding behaviour, plays a role in energy metabolism and glucose homeostasis, remains unknown. Therefore, the main objective of this study was to define PNX functions in biology of preadipocytes and pancreatic beta cells and to elucidate its influence on the expression and secretion of main mediators released by these cells, such as insulin and leptin.

In the Publication I, the role of PNX in preadipocyte and adipocyte physiology was confirmed. In 3T3-L1 preadipocyte cell line and in rat primary preadipocytes, the presence of PNX precursor Smim20 and its putative receptor Gpr173 was identified at mRNA level. Concomitantly, the production and secretion of PNX were confirmed. Moreover, PNX was demonstrated to increase preadipocyte proliferation. Under the exposure to PNX, the expression of adipogenic genes, *Ppar γ* , *C/ebp β* and *Fabp4*, was upregulated. Cell lipid content was increased, indicating stimulation of the preadipocyte differentiation. This effect depended on cAMP/Epac pathway.

In the Publication II, we showed that PNX might be important for glucose homeostasis being able to interact with pancreatic beta cells and secrete from them. PNX precursor and its putative receptor were identified in INS-1E cells and in isolated rat pancreatic islets. The presence of the PNX peptide was confirmed in both insulin- and glucagon-secreting rat pancreatic cells. PNX stimulated proliferation of the INS-1E and min6 cell lines. The peptide upregulated insulin mRNA expression in INS-1E cells, and time-dependently increased glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E cells and pancreatic islets. A molecular mechanism underlying stimulation of insulin secretion by PNX turned out to involve cAMP/Epac pathway. The influence on cell proliferation and insulin expression depended on ERK1/2- and AKT-signalling. Moreover, it has been shown that glucose stimulates PNX secretion in rat pancreatic islets.

In other sets of experiments, PNX was demonstrated to decrease leptin expression by 3T3-L1 mature adipocytes. On the other hand, leptin appeared to induce PNX secretion in INS-1E cell line.

Taken together, these studies show that PNX is produced and capable of exerting biological effects in preadipocytes and pancreatic beta cells. The peptide influences cell proliferation of these cells and preadipocyte differentiation. It also modulates the expression and secretion of main mediators released by adipocytes and beta cells, arms of the adipoinsular axis, insulin and leptin. Therefore, these results indicate that PNX may be considered as a regulator of the adipoinsular axis.