

Streszczenie

Otyłość i cukrzyca typu 2 (DM2) są coraz częstszymi problemami w systemie ochrony zdrowia i oba schorzenia zyskały już miano chorób cywilizacyjnych. Choroby te wiążą się ze znacznie zwiększonym ryzykiem występowania innych schorzeń, w tym chorób sercowo-naczyniowych, nowotworów, retinopatii czy zaburzeń funkcji reprodukcyjnych (obniżony poziom testosteronu i hipogonadyzm u mężczyzn, zaburzenie cykli miesięcznych, niepłodność, zespół policystycznych jajników u kobiet). Dotychczas nie opisano jednak w pełni mechanizmów leżących u podstaw zaburzeń funkcji rozrodczych w otyłości i DM2.

Funkcje układu rozrodczego ssaków regulowane są przez oś podwzgórze – przysadka mózgowa – gonady (PPG). Nadrzędnym elementem tej osi są neurony wydzielające gonadoliberynę (GnRH), zlokalizowane w podwzgórze. Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że zaburzenia w statusie metabolicznym mogą prowadzić do deregulacji wydzielania GnRH, a tym samym do zaburzeń w sekrecji gonadotropin i hormonów płciowych. Wpływ zaburzeń metabolicznych i hormonalnych na neurony GnRH nie jest jednak bezpośredni, z uwagi na fakt, że neurony te nie posiadają receptorów dla hormonów płciowych. W 2003 r. jako element łączący procesy metaboliczne i rozrodcze zaproponowana została kisspeptyna (KP). Wykazano, że peptyd ten bezpośrednio wpływa na neurony GnRH, jak również jego ekspresja zmienia się w zależności od statusu metabolicznego i hormonalnego organizmu. Najwyższą ekspresję KP obserwuje się w podwzgórze w jądrze łukowatym (ARC). W ARC KP ulega koekspresji z dwoma innymi peptydami – neurokininą B (NKB), peptydem z grupy tachykinin oraz dynorfiną A (DYN A), peptydem z grupy endogennych opioidów, a populację tych neuronów nazwano „neuronami KNDy”. Nieliczne dotychczas badania wykazały, że otyłość i cukrzyca wpływają na ekspresję tych peptydów w ARC. Ponadto stwierdzono również zmiany w liczbie neuronów i ekspresji KP, NKB, i DYN A w zależności od poziomu hormonów płciowych. Warto jednak zaznaczyć, że ekspresja peptydów KNDy we wspomnianych stanach metabolicznych jest słabo zbadana, zwłaszcza u samic. Natomiast modele zwierzęce tych chorób są przydatne w badaniach nad tymi schorzeniami, również z uwagi na to, że mogą one pełnić rolę modeli przedklinicznych.

Powyższe przesłanki skłoniły do postawienia następujących hipotez:

- 1) Dieta wysokotłuszczowa prowadząca do rozwoju otyłości i/lub DM2 wpływa na oś PPG szczurzy, co skutkuje zaburzeniami funkcji reprodukcyjnych tych zwierząt, objawiając się m.in. zakłóceniami w regularności cyklu płciowego;
- 2) Otyłość i/lub DM2 wpływają na liczbę komórek KP-, NKB- i DYN A-immunoreaktywnych (-ir) w ARC szczurzy będących w fazie diestrus cyklu;
- 3) Zabieg ovariectomii i/lub podania estradiolu i progesteronu wpływa na liczbę neuronów KP-, NKB- i DYN A-ir w ARC szczurzy z eksperymentalnie wywołaną otyłością i/lub DM2.

W obu eksperymentach przedstawionych w niniejszej pracy, szczurzyce zostały podzielone na trzy podstawowe grupy: 1) zwierzęta kontrolne (K); 2) osobniki z otyłością wywołaną dietą wysokotłuszczową (HFD); 3) osobniki z DM2 wywołaną poprzez podawanie HFD i iniekcji ze streptozotocyny (toksyny niszczącej komórki β wysp trzustkowych; DM2). W eksperymencie 2 w ramach każdej z grup wyodrębniono trzy podgrupy, w których zwierzęta poddano następującym zabiegom: 1) ovariectomii (OVX); 2) ovariectomii i podaniu estradiolu (OVX+E₂); 3) ovariectomii i podaniu estradiolu, i progesteronu (OVX+E₂+P₄). W obu eksperymentach określono profil metaboliczny i hormonalny zwierząt oraz wpływ zmienionego statusu metabolicznego na liczbę neuronów KP-, NKB- i DYN A-ir w ARC. Ponadto w eksperymencie 1 badano wpływ HFD i DM2 na regularność cykli płciowych szczurzy, zaś w eksperymencie 2 wpływ podania hormonów płciowych na liczbę neuronów KP-, NKB- i DYN A-ir w ARC zwierząt z zaburzonym statusem metabolicznym.

Wykazano, że: 1) nieprawidłowości metaboliczne takie jak otyłość i DM2 skutkują zaburzeniami w cyklu estralnym szczurzy; 2) oba stany metaboliczne nie wpływają na liczbę neuronów KP-, NKB- i DYN A-ir w ARC samic zarówno w fazie diestrus, jak i po OVX i/lub OVX i podaniu hormonów płciowych; 3) otrzymane wyniki sugerują występowanie różnic płciowych (w porównaniu do wyników otrzymanych w poprzednich pracach na samcach) w odpowiedzi neuronów KP-, NKB- i DYN A-ir na status hormonalny (gonadektomia, gonadektomia z podaniem hormonów płciowych) w DM2.

Podsumowując, wykazano, że w porównaniu z samcami, szczurzyce charakteryzują się zmienioną odpowiedzią neuronów KP-, NKB- i DYN A-ir na zaburzony status metaboliczny, co widoczne jest zwłaszcza u zwierząt

obaczonych DM2. Sugeruje to występowanie różnic płciowych w funkcjonowaniu tych neuronów w tym stanie metabolicznym. Wyniki te potwierdzają również rolę KP jako ogniwa łączącego procesy metaboliczne i rozrodcze.

Abstract

Obesity and type 2 diabetes (DM2) are a growing problem in the healthcare system. Due to the large number of cases in recent years, both diseases have already become known as diseases of affluence. Both maladies are associated with a significantly increased risk of other conditions, including cardiovascular disease, cancer, retinopathy or reproductive function disorders (decreased testosterone levels and hypogonadism in men, disruption of menstrual cycles, infertility, polycystic ovary syndrome in women). To date, however, the mechanisms underlying reproductive dysfunction in obesity and DM2 have not been fully understood.

The functions of the mammalian reproductive system are regulated by the hypothalamus – pituitary – gonadal axis (HPG). On the top of this axis are gonadoliberein-releasing (GnRH) neurons located in the hypothalamus. Studies conducted so far have shown that disorders in metabolic status can lead to deregulation of GnRH secretion, and thus, to disorders in the secretion of gonadotropins and sex hormones. However, the effect of metabolic and hormonal status on GnRH neurons is not direct, as these neurons do not have receptors for sex hormones. In 2003, kisspeptin (KP) was proposed as a link between metabolic and reproductive processes. This peptide has been shown to directly affect GnRH neurons, as well as its expression varies depending on the metabolic and hormonal status. The highest expression of KP is observed in the arcuate nucleus (ARC) of the hypothalamus. In ARC, KP is co-expressed with two other peptides – neurokinin B (NKB), a tachykinin peptide and dynorphin A (DYN A), an endogenous opioid peptide, and the population of these neurons has been called "KNDy neurons". Several studies to date have shown that obesity and diabetes affect the expression of these peptides in ARC. In addition, changes in the number of neurons and expression of KP, NKB and DYN A depending on sex hormone levels have also been shown. It is worth noting, however, that the expression of KNDy peptides in these metabolic states is poorly studied, especially in females.

Thus, following the reasoning set forth, we hypothesized that: 1) A high-fat diet leading to the development of obesity and/or DM2 affects the HPG axis of females, resulting in impaired reproductive functions in these animals, manifested by irregularities of the estrous cycle; 2) Obesity and/or DM2 affect the

number of KP-, NKB- and DYN A-immunoactive (-ir) cells in ARC of females; (3) Ovariectomy and/or post-ovariectomy administration of estradiol and progesterone affects the number of KP-, NKB- and DYN A-ir neurons in ARC of females with experimentally induced obesity and/or DM2.

In both experiments discussed in this thesis, rats were divided into three main groups: 1) control animals (K); (2) animals with obesity caused by a high-fat diet (HFD); (3) rats burdened with DM2 induced by administration of HFD and streptozotocin injections (a toxin that destroys pancreatic β cells; DM2). In Experiment 2, rats were divided into three subgroups within each group, in which the animals underwent the following procedures: (1) ovariectomy (OVX); (2) ovariectomy and estradiol replacement (OVX+E₂); (3) ovariectomy and estradiol and progesterone replacement (OVX+E₂+P₄). In both experiments metabolic and hormonal profiles of animals were assessed, as well as the effects of altered metabolic status on the number of KP-, NKB- and DYN A-ir neurons in ARC. In addition, in experiment 1 the effect of HFD and DM2 on the regularity of estrous cycle were assessed, and experiment 2 was focused on the effects of sex hormone replacement on the number of KP-, NKB- and DYN A-ir neurons in ARC of animals with impaired metabolic status.

It was found that: 1) metabolic abnormalities, such as obesity and DM2, result in irregularities of estrous cycle in female rats; 2) both metabolic states do not affect the number of KP-, NKB- and DYN A-ir neurons in ARC of females, neither in diestrus, nor after OVX and/or OVX and hormonal replacement; (3) obtained results suggest that there are sex differences (compared to previous results obtained from males) in the response of KP-, NKB- and DYN A-ir neurons to hormonal status (gonadectomy, gonadectomy and sex hormone replacement) in DM2.

In conclusion, compared to males, female rats have an altered response of KP-, NKB- and DYN A-ir neurons to impaired metabolic status, which is particularly visible in DM2 animals. This suggests that there are sex differences in the functioning of these neurons in this metabolic state. These results also confirm the role of KP as a link between metabolic and reproductive functions.