Streszczenie w języku polskim

Wstęp: Mięśnie szkieletowe odpowiadają za ~80% stymulowanego insuliną wychwytu glukozy i odgrywają kluczową rolę w metabolizmie lipidów. Spożywanie diety bogatotłuszczowej (HFD) może przyczyniać się do zmian metabolicznych w mięśniach, w tym do rozwoju insulinooporności. Przeprowadzone dotychczas badania wskazują na istotną rolę ceramidów w rozwoju insulinooporności mięśni szkieletowych. Dokładne mechanizmy działania tych biologicznie aktywnych lipidów nie zostały jednak w pełni poznane. W celu zgłębienia tego tematu, przeprowadzono eksperyment, w którym próbowano wyjaśnić rolę akumulacji ceramidów w indukowaniu insulinooporności mięśni szkieletowych myszy karmionych dietą bogatotłuszczową. Aby osiągnąć ten cel, przy użyciu plazmidów shRNA przeprowadzone zostało wyciszenie genu kodującego białko SPT – kluczowego enzymu w syntezie *de novo* ceramidów. Następnie zbadano wpływ wycieszenia tego genu na akumulację biologicznie aktywnych lipidów oraz szlak sygnalizacji insuliny w mięśniu brzuchatym łydki zwierząt z insulinoopornością wyindukowaną dietą bogatotłuszczową.

Materiał i metody: Doświadczenie przeprowadzono na samcach myszy szczepu C57BL/6. Zwierzęta podzielono losowo na 2 grupy (n=8). Pierwsza z nich była karmiona standardową dietą dla gryzoni, druga zaś dietą bogatotłuszczową. Wyciszanie genów przeprowadzono przy użyciu plazmidów shRNA. Do mięśni brzuchatych łydki obu kończyn tylnych zwierząt z pierwszej grupy podano plazmidy niewyciszające. U myszy z grupy karmionej dietą bogatotłuszczowa do mięśnia brzuchatego łydki jednej tylnej kończyny podano plazmidy shRNA ukierunkowane na *Sptlc2*, natomiast mięsień brzuchaty łydki drugiej kończyny został potraktowany plazmidami niewyciszającymi. U wszystkich zwierząt przeprowadzono test tolerancji glukozy i test tolerancji insuliny. Obliczono wartość wskaźnika HOMA-IR. Stężenie sfingolipidów mięśniowych, diacyloglicerolі, triacyloglicerolі, acylo-CoA, acylo-karnityny oraz wolnych kwasów tłuszczowych w osoczu oznaczano za pomocą UHPLC/MS/MS. Stopień wyciszenia genu określono zaś metodą RT-PCR, a ilość białka SPT metodą Western blot. Poziom aktywacji białek szlaku sygnałowego insuliny zbadano za pomocą metody Western blot.

Wyniki: Dieta bogatotłuszczowa spowodowała znaczny wzrost ekspresji *SPT* w mięśniach szkieletowych, co wiązało się z ~70% wzrostem zawartości ceramidów. Akumulacja biologicznie aktywnych lipidów spowodowała spadek poziomu i/lub stopnia fosforylacji białek

szlaku insulinowego. U myszy karmionych dietą bogatotłuszczową z wyciszonym genem *Sptlc2* w mięśniu brzuchatym łydki zaobserwowano istotnie niższą zawartość ceramidu, bez zmian zawartości pozostałych lipidów. Spadkowi poziomu ceramidu w mięśniach towarzyszyła poprawa wrażliwości mięśni na insulinę.

Wnioski: Wyniki przeprowadzonego badania pokazują, że spożywanie HFD prowadzi do wewnątrzmięśniowej akumulacji lipidów, w tym również ceramidów. Akumulacji lipidów w mięśniach towarzyszył stan insulinooporności. Obserwowanemu wzrostowi zawartości aktywnych biologicznie lipidów towarzyszyło zahamowanie aktywności białek szlaku insulinowego. Wyciszanie genu *Sptlc2* spowodowało spadek poziomu ceramidu czemu towarzyszyła poprawa wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę. Uzyskane wyniki wskazują, że kontrolowanie syntezy *de novo* ceramidów może być potencjalnym celem terapeutycznym w leczeniu insulinooporności.

Słowa kluczowe: insulinooporność; ceramid; mięśnie szkieletowe; wyciszanie genów; elektrooporacja; palmitylotransferaza serynowa