



Unione Europea



Università degli studi di Salerno

Dottorato di ricerca in
Biochimica e patologia dell'azione dei farmaci
VIII ciclo nuova serie
2006-2010

Effetto selettivo di sieri umani dislipidemicici e degli acidi grassi poliinsaturi sull'espressione genica

Dottoranda

Dr.ssa Hylde Zirpoli

Tutor

Ch.mo Prof. Mario Felice Tecce

Coordinatore

Ch.ma Prof. Antonietta Leone

Serum profile, in physiological or pathological conditions, results from the whole effect of both nutritional intake and endogenous metabolism and is commonly used as diagnostic tool. Moreover individual serum components and their concentration are often related to specificity, development and progression of many metabolic diseases.

Dietary fat intake strictly affects serum lipid profile and cardiovascular disease epidemiology.

Fatty acids derived from diet, both saturated and polyunsaturated fatty acids, have specific and controversial effects. The underlying molecular mechanisms are numerous but partially understood, and they are related to homeostatic metabolic pathways as well gene expression effects.

Consequently the aim of this project was to assess the ability of serum samples differing in content of nutritionally related lipid components to specifically affect gene expression of human hepatoma cells (HepG2).

We collected 40 human sera, differing in metabolic and nutritionally relevant fatty acids, and tested their effect on hepatoma cells comparing samples from hyperlipidemic (cholesterol average 273 mg/dl) vs normolipidemic male subjects (cholesterol average 155 mg/dl). Analyzed genes were selected among those previously found modulated by lipid nutrients.

Determination of fatty acids in sera showed that arachidonic acid (AA) was 88% more abundant in hypercholesterolemic subjects ($p < 0.01$), while docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentanoic acid (EPA), as quota of total detected fatty acids, were significantly higher in normocholesterolemic subjects by 25% ($p < 0.05$) and by 80% ($p < 0.01$) respectively. Normocholesterolemic subjects had an higher n-3/n-6 fatty acids ratio ($p < 0.05$).

Hypercholesterolemic sera decreased sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA by 40% ($p < 0.05$). In hypercholesterolemic group, UDP-glucuronosyltransferase-1A1 (UGT1A1) mRNA expression was significantly increased by 84% ($p < 0.01$). Samples with higher concentrations of DHA, EPA and AA produced a higher expression of UGT1A1 mRNA.

The amount of fatty acids, as c18:2, c18:3, DHA, EPA, AA, is more high in hypercholesterolemic subjects ($p < 0.01$) and has an opposite trend compared to SREBP-1c mRNA expression ($p < 0.05$).

Our data clearly indicate that serum lipid profile is functionally linked with gene expression involved in metabolic and nutritional related conditions.

Sia l'apporto nutrizionale che il metabolismo endogeno contribuiscono in modo diretto e rilevante sulla composizione sierica, utilizzata comunemente come importante strumento diagnostico. Infatti la concentrazione di ciascun suo componente può incidere in maniera specifica sia sullo sviluppo che sulla progressione di differenti malattie metaboliche, in particolare a livello cardiovascolare.

L'obiettivo del nostro progetto è stato quello di individuare dei biomarkers di riferimento clinico, innanzitutto modulabili dallo stato nutrizionale di un individuo e quindi con azione preventiva o diagnostica verso le patologie legate alla dieta.

A tale scopo abbiamo testato la somministrazione diretta *in vitro* di differenti sieri umani, opportunamente selezionati, in un sistema sperimentale di cellule di epatoma umano, e valutato l'effetto indotto sulla modulazione di geni connessi al metabolismo lipidico, quali sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c), stearoyl CoA desaturase (SCD), uncoupling protein 2 (UCP2) e UDP-glucuronosyltransferase-1A1 (UGT1A1).

Mediante tecnica gas-cromatografica, un totale di 40 sieri umani, appartenenti a soggetti sani, sono stati caratterizzati per profilo in acidi grassi, sia i principali derivati dalla dieta che quelli metabolicamente sintetizzati e tali sieri sono stati classificati inoltre in due differenti gruppi: normolcolesterolemico (media 155 mg/dl) vs quello ipercolesterolemico (media 273 mg/dl).

In prima analisi, i livelli di acido arachidonico (AA), del suo precursore, l'acido linoleico e di C18:1*trans* risultano significativamente più elevati nel gruppo ipercolesterolemico ($p < 0.01$).

Inoltre i livelli di acido docosaesaenoico (DHA) come percentuale dei poliinsaturi dosati (c18:2, c18:3, DHA, EPA, AA, C18:1*trans*) sono maggiori nei soggetti normocolesterolemici ($p < 0.05$); anche per l'acido ecosopentaenoico (EPA) si riscontra lo stesso *trend* ma con una più alta significatività ($p < 0.01$).

I risultati ottenuti dall'analisi dell'espressione genica mostrano che il livello di messaggero di SREBP-1c ha un'espressione inversa rispetto ai valori di colesterolo ($p < 0.05$).

L'espressione genica di UGT1A1 è indotta in maniera significativa nel gruppo ipercolesterolemico ($p < 0.01$).

La somma dei principali acidi grassi poliinsaturi (EPA-DHA-AA) è più elevata in soggetti ipercolesterolemici ($p < 0.01$) e coincide con il *trend* crescente dell'espressione genica di UGT1A1 rispetto ai valori di colesterolo.

La somma degli acidi grassi poliinsaturi, quali c18:2, c18:3, DHA, EPA, AA, è più elevata in soggetti ipercolesterolemici ($p < 0.01$) e ha un andamento inverso rispetto ai livelli di espressione genica di SREBP-1c ($p < 0.05$).

Per quel che riguarda la modulazione genica di SCD e UCP2, non ci sono state variazioni di espressione correlabili al quadro lipidemico dei sieri selezionati.

In conclusione i nostri dati mostrano chiaramente che il profilo sierico in acidi grassi e la colesterolemia sono entrambi fattori in grado di indurre un effetto funzionale sull'espressione genica, agendo in maniera specifica e selettiva sul metabolismo lipidico.