

Il ruolo degli miRNA e il profilo delle oxilipine in VLCADD nella risposta sesso-specifica al trattamento con MCT

Sara Tucci¹, Fabiana Piscitelli², Adele Cutignano²

¹Klinikumsapotheke, Medizinische Fakultät, Albert-Ludwig-Universität Freiburg (Germany);

²Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Pozzuoli (Napoli)

Background

Il deficit della VLCAD è il disturbo più diffuso della β -ossidazione mitocondriale degli acidi grassi a catena lunga¹. Le raccomandazioni terapeutiche prevedono l'utilizzo di trigliceridi a catena media (MCT)^{2,3}. Studi sui fibroblasti di topi VLCAD^{-/-} hanno dimostrato che l'incubazione con ottanoato, uno dei componenti MCT, induce effetti collaterali diversi in base al sesso dei topi⁴ (Fig. 1). Recentemente è stato proposto un coinvolgimento dei microRNA (miRNA) nella regolazione dei processi metabolici. L'obiettivo di questo studio è analizzare l'espressione degli miRNA nei topi wildtype (WT) e VLCAD^{-/-} in condizioni basali e verificare se e come il trattamento MCT può indurre delle alterazioni con conseguenze sulla regolazione metabolica.

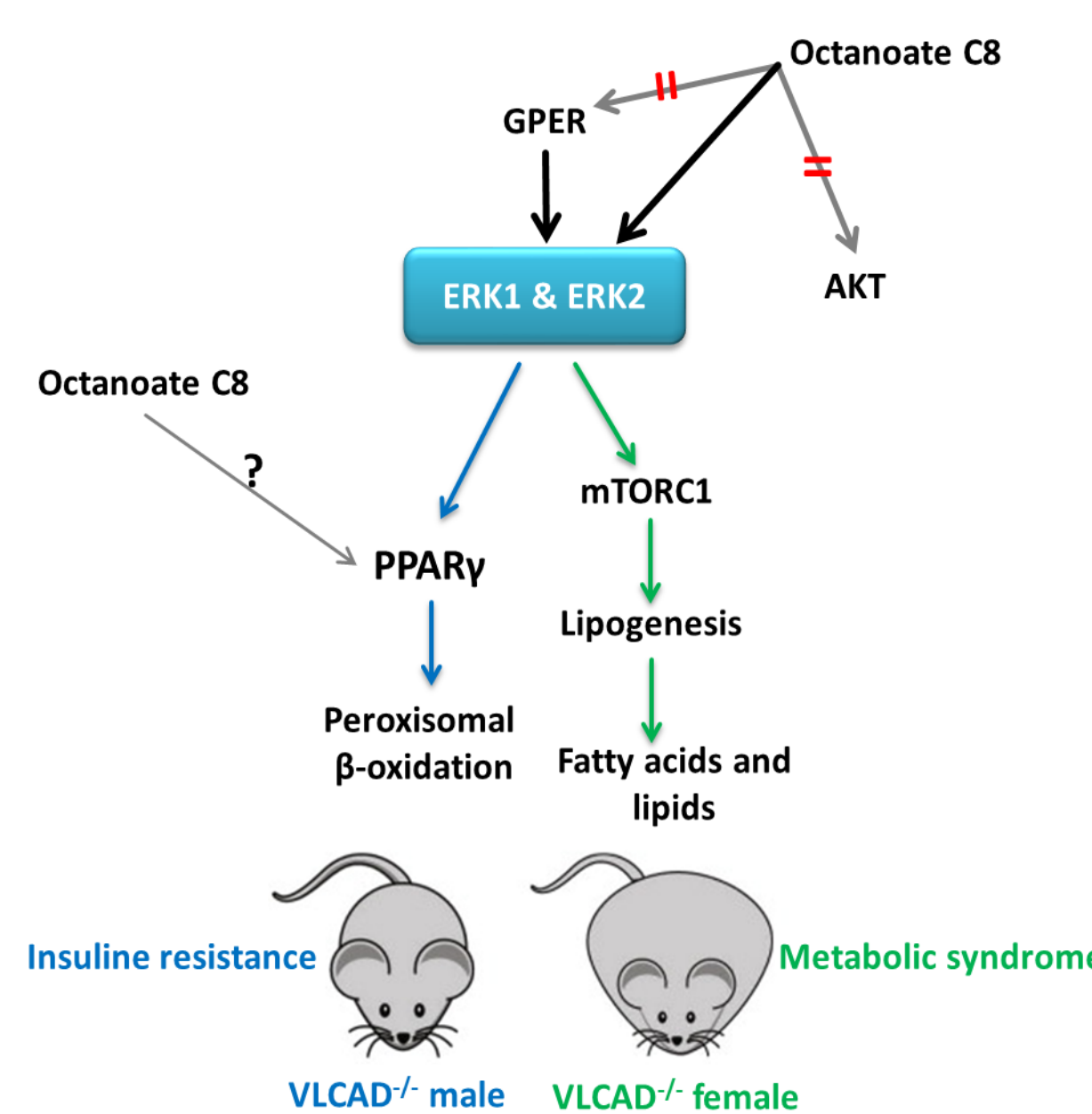
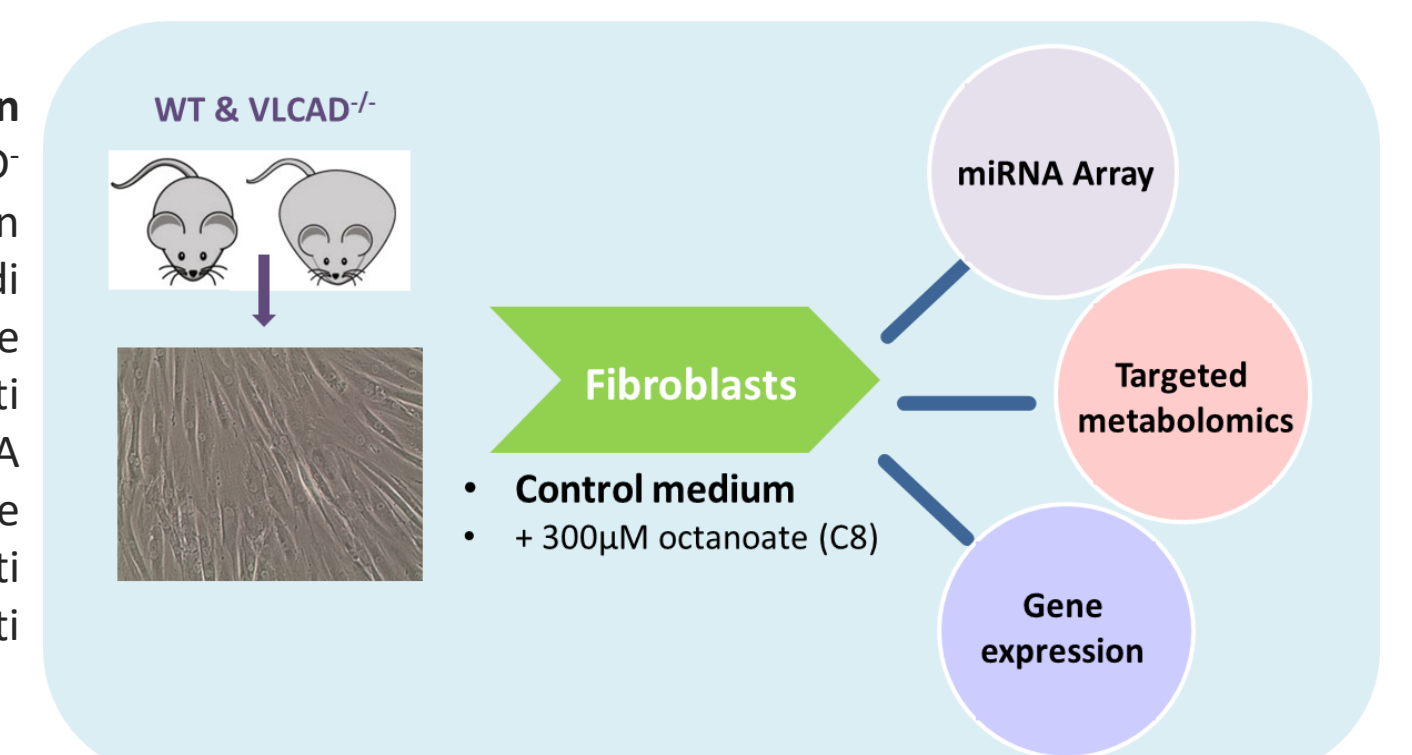


Figura 1: Rappresentazione schematica della risposta sesso-specifica al trattamento con MCT nei topi VLCAD^{-/-} (Alatibi et al. 2019)

Materiali & Metodi

L'espressione degli miRNA ottenuta mediante microarray è stata analizzata in fibroblasti di topi WT e VLCAD^{-/-} di entrambi i sessi. Questi dati sono stati corroborati dall'analisi di specifiche molecole bioattive come oxilipine ed endocannabinoidi mediante spettrometria di massa in grado di modulare la risposta infiammatoria e il metabolismo energetico.

Figura 2: Piano sperimentale utilizzato in questo studio. Fibroblasti di topi WT e VLCAD^{-/-} di entrambi i sessi sono stati coltivati in condizioni standard e con supplementazione di 300μM ottanoato. Dopo otto settimane 18*10⁶ cellule sono state suddivise in parti uguali e sottoposte a tre analisi diverse, miRNA Array, targeted metabolomics e targeted gene expression. Per questo studio sono stati utilizzati 3 triplicati biologici e 2-3 triplicati tecnici (n=5-6).



Risultati

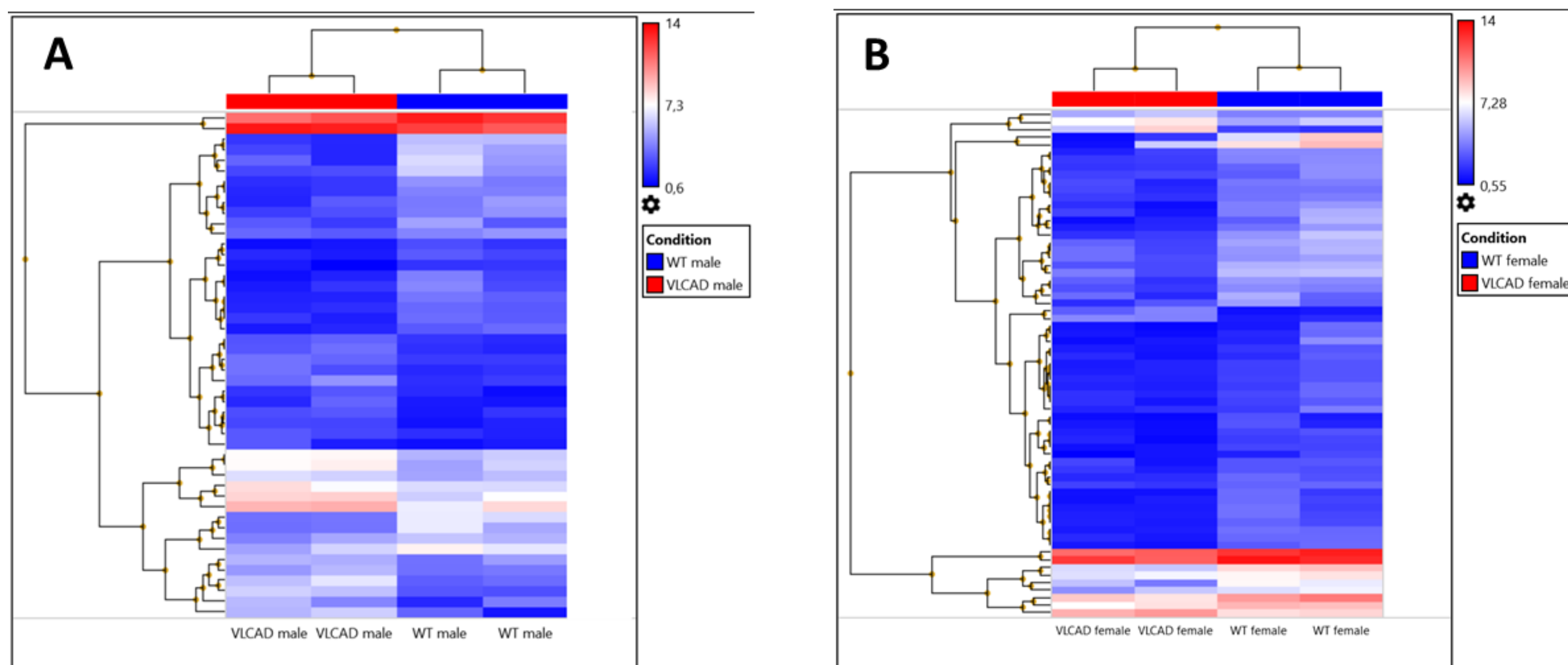
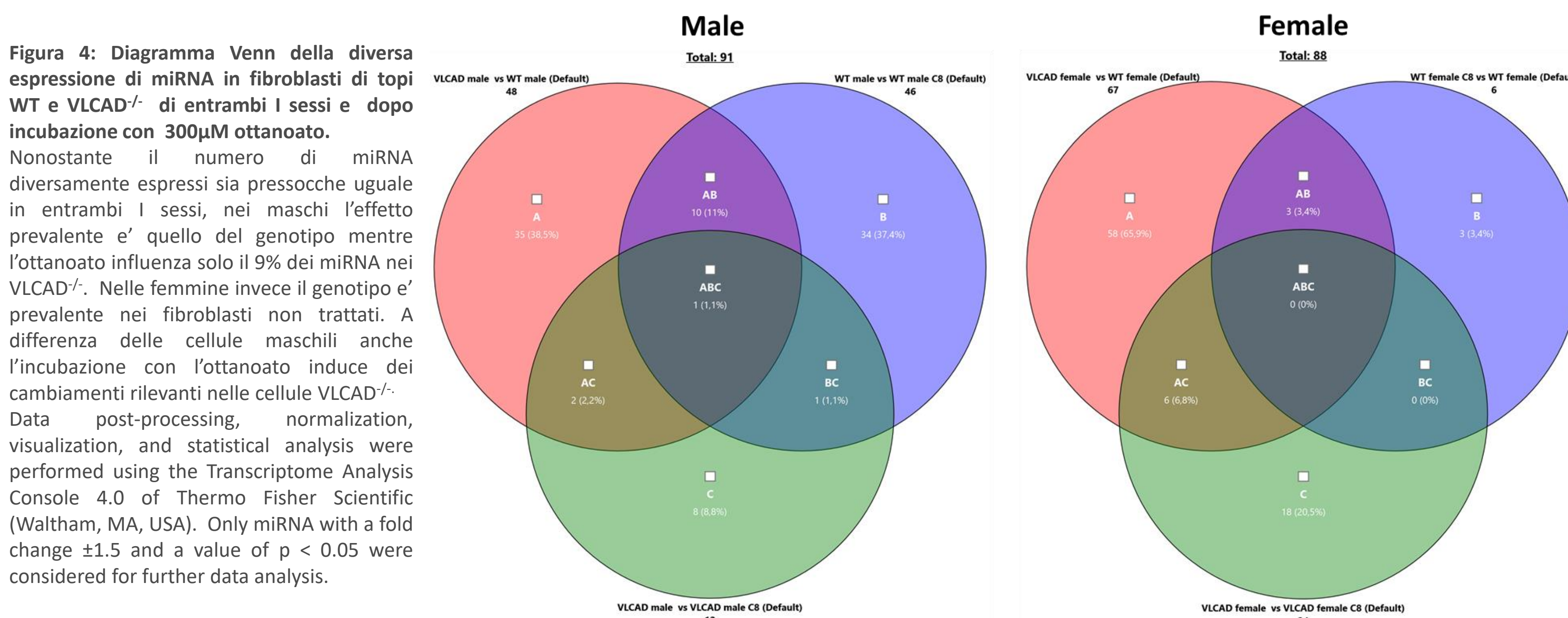


Figura 3: Diversa espressione di miRNA in fibroblasti di topi WT e VLCAD^{-/-} in condizioni normali rappresentata in una Heatmap. A: maschi; B: Femmine. Data post-processing, normalization, visualization, and statistical analysis were performed using the Transcriptome Analysis Console 4.0 of Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA). Only miRNA with a fold change ± 1.5 and a value of $p < 0.05$ were considered for further data analysis.



Discussione

L'analisi dei miRNA dimostra una notevole differenza di espressione in base al sesso e genotipo dei fibroblasti analizzati. L'incubazione con ottanoato induce cambiamenti rilevanti nell'espressione di alcuni miRNA specifici che modulano la risposta immunitaria e la biosintesi di prostaglandine ed endocannabinoidi. Inoltre, la diversa concentrazione di questi metaboliti riflette la risposta sesso-specifica dei topi VLCAD^{-/-} al trattamento con MCT. I nostri dati dimostrano che nonostante la VLCAD sia una malattia monogenetica, una terapia con MCT nei topi può effettivamente indurre effetti collaterali che possono essere ricondotti in prima linea a fattori genetici quali l'espressione di specifici miRNA. L'espressione di questi a loro volta è sesso-specifica e possono quindi influenzare in modo diverso diversi fattori coinvolti nel metabolismo energetico così come nella biosintesi e attività di metaboliti bioattivi. Tuttavia, non è chiaro se questi effetti occorrono nella stessa entità anche nei pazienti.

- Merritt JL 2nd, Norris M, Kanugo S. (2018) Fatty acid oxidation disorders. *Ann Transl Med* 6(24): 473
- Arnold GL, Van Hove J, Freedberg D, et al. (2009) A Delphi clinical practice protocol for the management of very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 96(3): 85-90
- Spiekerkoetter U, Bastin J, Gillingham M, et al. (2010) Current issues regarding treatment of mitochondrial fatty acid oxidation disorders. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 33(5): 555-561
- Wehbe, Z, Alatibi, K, Jellusova, J, Spiekerkoetter, U, Tucci, S, 2019a. The fate of medium-chain fatty acids in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCADD): A matter of sex? *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids*. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.08.001>

This project was financially supported by



Deutsche

Forschungsgemeinschaft



to PD Dr. Sara Tucci

German Research Foundation