Streszczenie

Czynniki antropogeniczne przyczyniają się do wzrostu zakwitów cyjanobakterii (sinic). Większość gatunków sinic produkuje toksyczne dla innych gatunków metabolity wtórne (cyjanotoksyny). Cyjanotoksyny, takie jak mikrocystyny (MC), zagrażają także innym organizmom wodnym i lądowym. MC dostają się do organizmów poprzez absorpcję lub drogą pokarmową. Do wnętrza komórki MC są transportowane aktywnie przez polipeptydy transportujące aniony organiczne (ang. OATP). Skutki toksycznego działania jednego z wariantów MC, mikrocystyny-LR (MC-LR), obserwowane są przede wszystkim w wątrobie. Silna hepatotoksyczność MC-LR wynika m.in. z wysokiej ekspresji OATP w hepatocytach. OATP ulegają ekspresji także w innych narządach, takich jak nerki, mięśnie, czy bariera krew-mózg. W komórce, MC-LR prowadzi m.in. do hiperfosforylacji białek, a nadmierny stres retikulum endoplazmatycznego może uruchamiać cytotoksyczne szlaki sygnałowe. Skutki uszkodzenia wątroby przez MC-LR są porównywalne do skutków jakie powodują inne substancje uszkadzające wątrobę. W farmakologii efekt wywołany przez ogół tych substancji klasyfikowany jest jako DILI (ang. drug-induced liver injury). W diagnostyce uszkodzeń narządów, np. wywołanych DILI, oprócz obserwacji zmian histopatologicznych, wykorzystywane są metody nieinwazyjne. Polegają one na mierzeniu zawartości w płynach ustrojowych cząsteczek specyficznych narządowo - biomarkerów. Powszechnie wykorzystywanymi biomarkerami DILI są enzymy wątrobowe. Jednakże wiele badań zarzuca im brak jednoznacznej specyficzności względem wątroby, a ich liczne izoformy wpływają na trudność w interpretacji wyników. Cząsteczki mające zastąpić wykorzystywane dziś biomarkery, powinny charakteryzować się wyższą specyficznością i czułością, a ich detekcja powinna być możliwa w niewielkiej ilości próby. Z powodu tych cech, biomarkerami nowej generacji mogą stać się niekodujące RNA (ncRNA).

W pracy zbadano wpływ MC-LR na poziomy specyficznych dla wątroby mikroRNA (miRNA) w osoczu siei. Na tle klasycznych metod oceny uszkodzenia wątroby, MiR122-5p wyróżniał się wyższą specyficznością oraz czułością. Ponadto, w pracy zaobserwowano toksyczny dla ośrodkowego układu nerwowego (OUN) przebieg ekspozycji na MC-LR. Zanotowany wzrost ekspresji mRNA glejowego kwaśnego białka włókienkowego (gfap) może wskazywać na indukowane w śródmózgowiu siei zmiany funkcjonalne. Analiza sekwencji nukleotydowej i aminokwasowej gfap siei, wykazała zachowanie elementów struktury ssaczych i rybich odpowiedników. Fragment 3'-UTR mRNA gfap zawierał miejsce rozpoznawane przez MiR124-3p, sugerując zależność funkcjonalną. Jednak badania *in vitro* oparte o system lucyferazowy nie potwierdziły założeń. Nie zaobserwowano również zmian poziomów MiR124-3p w osoczu siei eksponowanej na MC-LR. Dodatkowo, w pracy rozpoczęto badania u siei nad nową klasą biomarkerów - długimi niekodującymi RNA (ang. long noncoding RNA, lncRNA). Te dłuższe niż 200 par zasad niekodujące RNA charakteryzują się zróżnicowaną funkcjonalnością wynikającą z II-rzędowej struktury RNA. W pracy zidentyfikowano sekwencje niekodujące o ekspresji zmienionej przez MC-LR. Toksyna wpłynęła na ekspresję zarówno znanych u innych gatunków lncRNA, jak również nieskatalogowanych dotychczas nowych sekwencji niekodujących. Zależna od czasu ekspozycji na MC-LR zmiana ekspresji lncRNA wskazuje na powiązanie tych cząsteczek z uszkodzeniem i regeneracją wątroby, a także sugeruje możliwość ich potencjalnego wykorzystania w diagnostyce uszkodzenia wątroby. Ponadto, analiza miejsc wiązania MiR122-5p i MiR124-3p w sekwencjach lncRNA, wskazała na możliwe - konieczne do eksperymentalnego potwierdzenia - wzajemne interakcje w przebiegu patogenezy uszkodzenia wątroby i OUN wywołanych MC-LR.