

P27

## I LIVELLI DI MIR-106A SONO RIDOTTI NELLE CELLULE ENDOTELIALI COLTIVATE IN ALTO GLUCOSIO

Sanguineti R. 1, Puddu A. 1, Traverso C.E. 2, Nicolò M. 2, and Viviani I G.L.

1DIMI, Università degli Studi di Genova 2 DINOEMI, Università degli Studi di Genova

I microRNAs sono piccole molecole di RNA non codificante che regolano l'espressione genica a livello post-trascrizionale. È stato riportato che il miR-106a regola l'interdipendenza tra l'espressione di Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A) e di hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ).

Poiché il VEGF-A ha un ruolo patologico nelle complicanze micro vascolari del diabete, come la retinopatia diabetica e l'edema maculare diabetico, l'obiettivo di questo studio è quello di verificare se l'iperglicemia è in grado di modulare i livelli di espressione di miR-106a in un modello in vitro di barriera emato-retinica.

**Materiali e Metodi:** Le cellule endoteliali (HECV) sono state seminate in inserti, lasciate aderire per 24 ore e poi co-coltivate per 24 ore con le cellule dell'epitelio retinico pigmentato (ARPE-19) in DMEM basso glucosio (1 mg / ml; CTR) o DMEM alto glucosio (4,5 mg / ml; HG) supplementato con 10% FBS. L'RNA totale è stato estratto dalle cellule HECV e i livelli di miR-106a sono stati rilevati utilizzando real-time PCR quantitativa. Poi l'espressione di VEGF-A e HIF-1 $\alpha$ , che sono bersagli di miR-106a, è stata valutata con real-time PCR quantitativa. Un altro gruppo di cellule è stato lisato in RIPA buffer e l'espressione della proteina HIF-1 $\alpha$  è stata valutata mediante Western Blot.

**Risultati:** I livelli di miR-106a sono fortemente diminuiti nelle cellule HECV coltivate con HG rispetto al CTR (-64%  $\pm$  10,54%, p <0,001 vs CTR). I ridotti livelli di miR-106a sono associati ad una maggiore espressione di mRNA di VEGF-A e HIF-1 $\alpha$  (rispettivamente + 30%  $\pm$  11,79%, p <0,05 vs CTR, e + 33,3%  $\pm$  10,26%, p <0,01 vs CTR). Inoltre, i livelli della proteina HIF-1 $\alpha$  sono aumentati nelle cellule HECV coltivate in condizioni di iperglicemia (+ 51,7%  $\pm$  8,622%, p <0,001 vs CTR).

**Conclusione:** Qui vi mostriamo per la prima volta che l'iperglicemia riduce direttamente i livelli di miR-106a nelle cellule endoteliali. Questi risultati suggeriscono che l'iperglicemia aumenta l'espressione dell'mRNA di VEGF-A e di HIF-1 $\alpha$  diminuendo i livelli di miR-106a. Inoltre l'aumentata espressione di VEGF-A indotta da HG potrebbe essere dovuta all'effetto sinergico tra la diminuzione di miR-106a e la stabilizzazione della proteina HIF-1 $\alpha$ . Questi risultati suggeriscono che l'iperglicemia può contribuire alle complicanze microvascolari del diabete alterando i livelli di miR-106a.

