

Accumulation of toxic lipid metabolites in cardiomyocytes leads to lipotoxicity, which is associated with activation or inhibition of signaling pathways, causing stress and dysfunction of organelles, energy deficit and apoptosis. Lipotoxicity also decreases cardiac insulin sensitivity, causing a shift in cardiac metabolism toward increased fatty acid (FA) uptake, storage and oxidation. The high rate of FA oxidation increases the production of reactive oxygen species (ROS), causing oxidative stress, mitochondrial damage and disruption of Ca^{2+} homeostasis.

Stearoyl-CoA desaturase (SCD) is a key enzyme involved in the regulation of lipid metabolism in cardiomyocytes. In addition to the formation of monounsaturated fatty acids, this enzyme regulates lipolysis and β -oxidation, thereby affecting functional parameters of the heart. Four isoforms of SCD have been identified in mice, of which SCD4 is considered the cardiac-specific isoform. The loss of SCD4 in the mouse heart has been shown to reduce AMP-activated protein kinase activation induced by myocardial infarction (MI). Lack of *Scd4* expression in the heart after MI also reduced ROS formation by decreasing protein levels of the NADPH oxidase subunit. Loss of SCD4 also decreased proangiogenic factors in the heart and plasma, suggesting that SCD4 positively regulates blood vessel formation in the mouse heart after MI. However, the role of SCD4 in regulating cardiac metabolism and function remains poorly understood.

The main objective of this dissertation was to determine the effects of SCD4 deficiency on cardiac structure, function and metabolism under physiological conditions and in obesity. To test this: 1) the role of SCD4 in the regulation of systemic metabolism in mice was determined; 2) the effects of SCD4 deficiency on cardiac function and structure were investigated; 3) the metabolic pathways through which SCD4 regulates lipid metabolism in the heart were identified; 4) the effects of *Scd4* expression on mitochondrial structure and activity in cardiomyocytes were determined. The study was conducted on wild-type (WT) mice and SCD4-deficient (*SCD4*^{-/-}) mice kept under normal conditions or fed a high-fat diet (HFD) for 8 weeks to induce obesity. *In vitro* studies were performed using a mouse HL-1 cardiomyocytes with silenced *Scd4* expression.

The study showed that loss of SCD4 had systemic effects, reducing body adiposity, hyperinsulinemia and hypercholesterolemia, and increasing insulin sensitivity in HFD-fed mice, despite SCD4 being a cardiac-specific isoform. The absence of SCD4 under normal conditions caused minor changes in heart morphology, reducing left ventricular end-diastolic diameter and volume, but prevented concentric cardiac remodeling under HFD conditions. *Scd4* deficiency reduced lipid accumulation in cardiomyocytes, but did not affect the expression of other *Scd* isoforms in the heart. Lower lipid levels in SCD4-deficient cardiomyocytes were associated with activation of adipose triglyceride lipase and lipolysis. Simultaneous activation of lipogenesis, β -oxidation and lipolysis indicated increased lipid droplet (LD) dynamics, and downregulation of SCD4 inhibited the HFD-induced increase in LDs growth in cardiomyocytes. These results indicate that SCD4 is involved in the regulation of cardiac energy metabolism. Mitochondrial hypertrophy and ROS overproduction caused by lipid accumulation and toxicity were inhibited in cardiomyocytes with silenced *Scd4* expression under lipid overload conditions. This was associated with increased mitophagy and decreased NADH dehydrogenase activity. SCD4 was also found to be involved in the regulation of Ca^{2+}

homeostasis in the heart under HFD conditions, through increased levels of phospholamban and sarcoplasmic Ca^{2+} -ATPase type 2.

In conclusion, the results of this study showed that SCD4 not only regulates lipid metabolism in the heart, but also affects myocardial function and systemic metabolism, especially in the HFD condition.

Nagromadzenie szkodliwych metabolitów lipidowych w kardiomiocytach prowadzi do rozwoju lipotoksyczności, co wiąże się z aktywacją lub zahamowaniem szlaków sygnałowych, powodując stres i dysfunkcję organelli, deficyt energetyczny i apoptozę. Kolejnym efektem lipotoksyczności jest spadek wrażliwości serca na insulinę, co przesunęła metabolizm serca w kierunku większego wychwytu, magazynowania i utleniania kwasów tłuszczowych (FAs). Wysokie tempo utleniania FAs zwiększa ilość produkowanych reaktywnych form tlenu (ROS) powodując stres oksydacyjny, uszkodzenie mitochondriów i zaburzenie homeostazy jonów Ca^{2+} .

Desaturaza stearoilo-CoA (SCD) jest enzymem, który nie tylko katalizuje syntezę jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, ale także reguluje procesy lipolizy oraz β -oksydacji, przez co modyfikuje parametry funkcjonalne mięśnia sercowego. U myszy zidentyfikowano cztery izoformy SCD, z których SCD4 jest uważana za izoformę specyficzną dla serca. Wykazano, że wyciszenie *Scd4* w sercu myszy zmniejszyło aktywację białkowej kinazy aktywowanej przez AMP, która była indukowana przez zawał serca (MI). Brak ekspresji *Scd4* w mięśniu sercowym po MI zmniejszał także powstawanie ROS oraz obniżał poziom czynników proangiogennych w sercu i osoczu, co sugeruje, że SCD4 pozytywnie reguluje tworzenie naczyń krwionośnych w mięśniu sercowym myszy po MI. Rola SCD4 w regulacji metabolizmu i funkcji serca jest jednak słabo poznana.

Głównym celem pracy doktorskiej było określenie wpływu wyciszenia ekspresji *Scd4* na strukturę, funkcję i metabolizm serca w stanie fizjologicznym oraz w otyłości. W tym celu: 1) określono rolę SCD4 w regulacji ogólnoustrojowego metabolizmu myszy; 2) zbadano wpływ wyciszenia *Scd4* na funkcję i strukturę serca; 3) zidentyfikowano szlaki metaboliczne, przez które SCD4 reguluje metabolizm lipidów w sercu; 4) określono wpływ ekspresji *Scd4* na strukturę i aktywność mitochondriów w kardiomiocytach. W badaniach wykorzystano myszy typu dzikiego oraz myszy z wyciszoną ekspresją *Scd4* (*SCD4^{-/-}*) karmione dietą standardową lub wzbogaconą w tłuszcze (HFD) przez 8 tygodni w celu wywołania otyłości. Eksperymenty przeprowadzono również na modelu *in vitro* z wykorzystaniem mysich kardiomiocytów HL-1 z wyciszoną ekspresją *Scd4*.

Przeprowadzone badania wykazały, że brak SCD4 u myszy wywiera skutki ogólnoustrojowe, tj. zmniejsza stłuszczenie ciała, hiperinsulinemię i hipercholesterolemię oraz zwiększa wrażliwość na insulinę, u myszy karmionych HFD, pomimo, że dotychczas opisano występowanie SCD4 jedynie w sercu. Brak SCD4 w warunkach fizjologicznych wywołał niewielkie zmiany w morfologii serca, natomiast zapobiegł koncentrycznej przebudowie serca w warunkach HFD. Wyciszenie ekspresji *Scd4* obniżyło poziom lipidów zmagazynowanych w kardiomiocytach, nie wpłynęło natomiast na ekspresję pozostałych izoform *Scd* w sercu. Niższy poziom lipidów w kardiomiocytach myszy *SCD4^{-/-}* był związany z aktywacją swoistej dla adipocytów lipazy triacyloglicerolowej, a przez to lipolizy. Jednoczesna aktywacja lipogenezy, β -oksydacji i lipolizy sugeruje zwiększoną dynamikę kropli lipidowych (LDs), przy czym wyciszenie ekspresji *Scd4* zmniejszyło indukowany przez HFD wzrost LDs w kardiomiocytach. Wyniki te wskazują, że SCD4 jest zaangażowane w regulację metabolizmu energetycznego serca. Wykazano także zahamowanie przerostu mitochondriów i nadprodukcji ROS w kardiomiocytach z wyciszoną ekspresją *Scd4* w warunkach przeciążenia lipidami. Było to związane ze wzmożeniem procesu mitofagii i spadkiem aktywności dehydrogenazy NADH. Stwierdzono także, że SCD4 bierze udział w regulacji homeostazy Ca^{2+} w sercu

w warunkach HFD, poprzez wzrost zawartości białek fosfolambanu i sarkoplazmatycznej Ca^{2+} -ATPazy typu 2.

Podsumowując, wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że SCD4 reguluje nie tylko metabolizm lipidów w sercu, ale wpływa także na funkcję mięśnia sercowego oraz metabolizm całego organizmu, szczególnie w modelu HFD.