

W naszych wcześniejszych badaniach wykazaliśmy brązowienie okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej (PVAT) u myszy Apo-E i C57BL/6J, którym podawano przez 8 tygodni kwas all-trans retinowy (atRA). Celem niniejszego badania będzie identyfikacja cząsteczek i mechanizmów, za pomocą których indukowane atRA brązowienie PVAT reguluje funkcję śródbłonna u myszy Apo-E. Porównamy również przeciwmiażdżycowe i promiażdżycowe cząsteczki wydzielane przez PVAT w różnych warunkach (normalna dieta i wysokotłuszczowa dieta (HFD); wczesny etap miażdżycy i zaawansowany etap rozwoju miażdżycy). Nasze badania opierają się na hipotezie, że zmiany molekularne w PVAT są warunkowane przez zmiany fizjologiczne zachodzące w organizmie.

Miażdżycy powoduje około 50% wszystkich zgonów w zachodnich społeczeństwach. Stanowi główną przyczynę chorób sercowo-naczyniowych o podłożu miażdżycowym (ASCVD) prowadzących do zawału serca, udaru i choroby tętnic obwodowych. Modyfikacja diety, ćwiczenia i leki wpływające na poziom lipidów osocza mogą wpływać na powstawanie blaszek miażdżycowych w tętnicach. Miażdżycy jest postępującym, przewlekłym zaburzeniem metabolicznym naczyń krwionośnych, na które wciąż nie wykryto skutecznej terapii.

Witamina A jest ważnym mikroelementem zaangażowanym w regulację głównych czynników ryzyka miażdżycy, w tym stężenia glukozy, metabolizmu lipidów i stanu zapalnego. Kwas retinowy (RA) jest głównym aktywnym metabolitem retinoidów występujących w komórce. Wykazano, że podanie RA sprzyja brązowieniu PVAT i zwiększa ekspresję białka rozprzęgającego 1 (UCP1) u myszy zarówno w badaniach in vivo, jak i in vitro.

PVAT, która otacza większość naczyń krwionośnych aktywnie reguluje homeostazę naczyniową poprzez wytwarzanie szeregu biologicznie aktywnych cząsteczek, w tym adipokiny. W warunkach fizjologicznych PVAT produkuje i wydziela kilka cząsteczek przeciwmiażdżycowych, takich jak NO, H₂S i adiponektynę. W warunkach patofizjologicznych, takich jak otyłość, hiperlipidemia czy cukrzyca homeostaza PVAT zostaje zaburzona. Dysfunkcyjna i przekształcona w białą tkankę tłuszczową PVAT uwalnia prozapalne adipokiny, które sprzyjają rozwojowi miażdżycy. Jednak dokładne mechanizmy, za pomocą których indukowane atRA brązowienie PVAT może regulować czynność śródbłonna, pozostają niejasne. W niniejszym badaniu zbadamy wpływ brązowienia PVAT indukowanego podaniem atRA na czynność śródbłonna u myszy Apo-E na zwykłej diecie lub HFD.

Myszy Apo-E charakteryzują się rozwojem ciężkiej hipercholesterolemii i wszystkimi znanymi fazami aterosogenezy podobnymi do tych obserwowanych u ludzi. Na tym modelu myszy określimy stężenie glukozy, insuliny i profil lipidów. Ponadto dokonamy oceny ilościowej zmian miażdżycowych za pomocą analizy histologicznej i immunohistologicznej. Dodatkowo zbadaliśmy wpływ podawania atRA na brązowienie PVAT u myszy Apo-E. Następnie poprzez analizę ekspresji genów przy użyciu mikromacierzy przeanalizujemy cząsteczki związane z brązowieniem PVAT i potencjalnie wpływające na funkcję śródbłonna po podaniu atRA. Następnie wykonamy walidację wyników mikromacierzy przy użyciu qPCR. W kolejnym kroku wybierzemy 5 cząsteczek o największej ekspresji genów analizowanych za pomocą mikromacierzy u myszy po podaniu atRA w porównaniu z grupą kontrolną, a także u myszy na standardowej diecie i HFD i zweryfikujemy te wyniki za pomocą metody Western blot i/lub ELISY. Na koniec spróbujemy zidentyfikować mechanizmy regulacji funkcji śródbłonna dla wytwarzanych i wydzielanych przez PVAT cząsteczek poprzez analizę ich wpływu na a) proces zapalny (IL-6); b) cząsteczki adhezyjne (VCAM); c) wytwarzanie NO i) wytwarzanie ROS (nadtlenu) w linii pierwotnej komórek śródbłonna aorty u myszy. Będziemy to wykonywać poprzez cytokiny/cząsteczki i ich supresję przez określone receptory lub szlaki przekazywania sygnału, w zależności od analizowanych cząsteczek.

Zgodnie z naszą najlepszą wiedzą, żadne badania nie analizowały wpływu brązowienia PVAT po podawaniu atRA na czynność śródbłonna. Porównamy również przeciwmiażdżycowe i promiażdżycowe cząsteczki PVAT w różnych warunkach (normalna dieta i HFD; wczesny etap miażdżycy i zaawansowany etap rozwoju miażdżycy). Naszą hipotezą badawczą jest założenie, że przy normalnej diecie brązowienie PVAT poprawi funkcję śródbłonna i pomoże w identyfikacji mechanizmów związanych z regulacją śródbłonna. Badanie to pomoże w ocenie, czy zmiana funkcji PVAT poprzez stymulowanie brązowienia PVAT może zostać wykorzystane jako nowa terapia w leczeniu miażdżycy oraz jego dalszych konsekwencji w postaci ASCVD.