

Nowe mechanizmy regulacji funkcji komórek śródbłonka i patologii aorty – znaczenie NRF2/KEAP1 i mikroRNA-34a

Krew rozprowadzona jest po całym ciele przez silnie rozgałęzioną sieć tętnic. Utrzymanie stałego dopływu krwi do tkanek wymaga od naczyń niemal natychmiastowej odpowiedzi na zmieniający się przepływ. Istnieje wzajemna zależność między siłami mechanicznymi a przebudową naczyń, zatem biomechanika tętnic może regulować los i strukturę układu sercowo-naczyniowego. Pojawienie się nieprawidłowego obciążenia mechanicznego w miejscach wrażliwych strukturalnie, może prowadzić do trwałego poszerzenia aorty brzusznej – tętniaka aorty brzusznej (TAB). Jego uformowanie i wzrost obarczone jest dużym ryzykiem pęknięcia, co najczęściej prowadzi do zgonu. Niestety, molekularne i komórkowe mechanizmy tej choroby są wciąż słabo poznane. Wiadomo, że w początkowych etapach dochodzi do mikropęknięć, które później prowadzą do znacznego wybrzuszenia i zmiany struktury aorty.

Dotychczasowe badania nad mechanizmami TAB niemal zupełnie pominęły znaczenie komórek śródbłonka. Komórki te wyściełają wszystkie naczynia krwionośne, jednak ich rola wykracza poza samo ustanowienie bariery strukturalnej między krwią a otaczającymi tkankami. Jest to wszechstronny narząd, który umożliwia prawidłowe funkcjonowanie układu krążenia. Niestety, szczególna lokalizacja na styku krwi i narządów sprawia, że komórki śródbłonka są silnie narażone na czynniki stresowe, które mogą prowadzić do ich przedwczesnego starzenia i utraty specjalistycznych funkcji. W efekcie dochodzi do zaburzenia funkcji naczyń krwionośnych i zwiększonego ryzyka wystąpienia chorób układu krążenia. Przypuszczalnie, rola komórek śródbłonka w mechanizmie powstawania TAB może być silnie związana z utrzymaniem ich zdrowego, w pełni funkcjonalnego, fenotypu. Stanowią one selektywnie przepuszczalną barierą przeciwwakrzepową, determinują migrację leukocytów do tkanek objętych stanem zapalnym i parakrynnie regulują napięcie naczyniowe. Każdy z tych procesów może mieć istotne znaczenie w TAB.

Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej mają na celu zrozumienie mechanizmów powstawania TAB, ze szczególnym uwzględnieniem funkcji i starzenia się komórek śródbłonka. Nasze wstępne badania oraz dane literaturowe wskazują, że główny regulator odpowiedzi komórek na stres - NRF2 oraz mikroRNA-34a są istotnymi modulatorami starzenia, biologii komórek śródbłonka oraz funkcji aorty. Stąd, podejrzewamy, że śródbłonek może mieć kluczowy wpływ na fizjologię naczyń krwionośnych i powstawanie TAB.

Szczegółowym celem pracy jest określenie znaczenia związanych z wiekiem fenotypowych, strukturalnych i funkcjonalnych cech komórek śródbłonka oraz aorty w etiologii TAB.

Niedobór aktywności transkrypcyjnej NRF2 u myszy prowadzi do przedwczesnego starzenia się aorty oraz predysponuje do TAB w porównaniu do myszy typu dzikiego. Utworzone tętniaki u obu genotypów myszy mają wspólne cechy charakterystyczne: nasilony naciek komórek odpornościowych, silne zmiany struktury ściany aorty i środowisko utleniające. W świetle kluczowego znaczenia aktywności transkrypcyjnej NRF2 w odpowiedzi na stres oksydacyjny, podejrzewamy, że jest to znaczący czynnik odpowiadający za podatność myszy na TAB. Co więcej, poszukiwania istotnych, związanych z wiekiem, strukturalnych czynników predysponujących do TAB, wykazały, że sztywność strukturalna obrazowana mikroskopią sił atomowych może być jednym z nich. Ponadto za pomocą mikroskopii elektronowej zaobserwowaliśmy istotne anomalie strukturalne w obrębie warstwy wewnętrznej aorty. Zmiany te silnie korelują z częstością występowania TAB i mogą być spowodowane nadmiernym unaczynieniem aorty oraz otaczającej tkanki tłuszczowej.

W dalszych badaniach, przy użyciu śródbłonkowo-specyficznego nokautu miRNA-34a, skutecznie odwróciliśmy przedwczesne starzenie się komórek śródbłonka oraz wrażliwość na TAB u myszy z nokautem transkrypcyjnym NRF2. Wskazuje to na kluczowe znaczenie starzenia warstwy wewnętrznej aorty w podatności na TAB, a komórki śródbłonka mogą być niezbędnymi regulatorami tej choroby. Jednak w przeciwieństwie do wcześniej postulowanych mechanizmów, utrzymanie wyspecjalizowanych funkcji komórek śródbłonka nie jest głównym wyznacznikiem powstawania tętniaka. Proponujemy, że to nasilona proliferacja komórek śródbłonka chroni przez TAB, a w przypadku jego utworzenia, może go stabilizować.

Podsumowując, uważamy, że zdolność komórek śródbłonka do proliferacji i uszczelnienia ściany aorty może być głównym czynnikiem chroniącym przed TAB. Ponadto, wbrew obecnemu stanowi wiedzy, zależna od wieku skłonność do występowania TAB nie opiera się na funkcjonalnych cechach śródbłonka, ale zamiast tego wynika z charakterystycznego dla starzenia, nieodwracalnego ustania podziałów komórek śródbłonka.

Aleksandra Kopacz

Anne Guodou-Ruel

The novel mechanisms of the regulation of the endothelial cell function and aortic pathology – focus on NRF2/KEAP1 axis and microRNA-34a

The arterial system distributes blood throughout the body through a remarkable network characterised by vessel branching and bifurcation. Fluid dynamic patterns at these sites of flow division can be highly intricate compared to the flow in unbranching vessel segments. Arterial biomechanics governs cardiovascular fate and structure due to a reciprocal relationship between mechanical forces and cardiovascular remodelling. Besides, an abnormal mechanical strain with concomitant structural vulnerability conduces the permanent dilatation of the abdominal aorta – an abdominal aortic aneurysm (AAA). The occurrence of an aneurysm is associated with its expansion which may cause aortic wall rupture, leading to death in more than 80% of cases. The aetiology of AAA, although still not fully understood, is an orchestrated series of events that often start from small micro ruptures and end in the aortic wall bulging and rearrangements.

The research of the last decades overlooked the role of endothelial cells (ECs), which line all the blood vessels, in AAA development. Significantly, their role surpasses the sole establishment of a structural barrier between blood and surrounding tissues. It is a versatile and involute organ that keeps a tight rein on the proper functioning of the cardiovascular system. At the same time, ECs are very vulnerable, and exposure to adverse signals may trigger their premature ageing and dysfunction. It subsequently precipitates the impairment of the function of blood vessels and an increased risk of the onset of cardiovascular diseases. However, the endothelium involvement in the aetiology of AAA is vague. If postulated, it is mainly ascribed to the maintenance of healthy functional traits of ECs. They maintain a selectively permeable anti-thrombogenic barrier, determine leukocyte migration to inflamed tissues, and secrete various paracrine factors to regulate vascular tone. All of them could play a significant role in AAA.

This research aimed to define the mechanisms underlying the development of AAA, focusing on endothelial cell function and ageing. The preliminary research and literature data indicate that the central modulator of the cellular response to stress - NRF2 and microRNA-34a, are crucial regulators of ageing, EC biology and aortic function. Thus, we hypothesised that they might have a decisive influence on the physiology of blood vessels and AAA development. In this thesis, we aimed to address the significance of age-related phenotypic, structural and functional features of the ECs and the aorta in the aetiology of AAA.

NRF2 transcriptional deficiency in mice leads to premature ageing of the aorta

and predisposes to AAA compared to wild-type animals. Aneurysms that are formed in both genotypes share similar features: increased immune cell infiltration, robust aortic wall rearrangement and increased oxidation. In light of the importance of NRF2 transcriptional activity in harnessing oxidative stress, we propose it may be the susceptibility factor, rendering mice prone to AAA. Furthermore, in the quest to delineate the age-associated structural predilection factors to AAA, we observed that the structural stiffness depicted by atomic force microscopy could be significant. Moreover, we found a potential role of scanning electron microscopy-illustrated intimal aortic structural changes. They strongly correlate with the AAA incidence and may be caused by excessive vascularisation of the aorta and surrounding adipose tissue.

We efficiently rescued EC NRF2-dependent premature ageing and AAA formation in NRF2 transcriptional knockout mice using the EC-specific knockout of miRNA-34a, which implies the significance of intimal layer senescence in the susceptibility to AAA. Therefore, endothelial cells can be imperative regulators of AAA formation. However, contrary to previously postulated mechanisms, the maintenance of specialised EC function is not the primary determinant of aneurysm formation. We propose that EC proliferation protects against AAA and can confer aneurysm stability.

To sum up, we conclude that EC ability to proliferate and tighten the arterial wall can be the primary determinant of the onset of AAA. Therefore, contrary to current opinions, the age-dependent proneness to AAA does not rely on the functional endothelium features but could instead stem from the cessation of EC proliferation.

Aleksandre Ugeux Anne Guichard-Ruehl