The Journal of Immunology

The Complement Anaphylatoxin C5a Receptor Contributes to Obese Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance

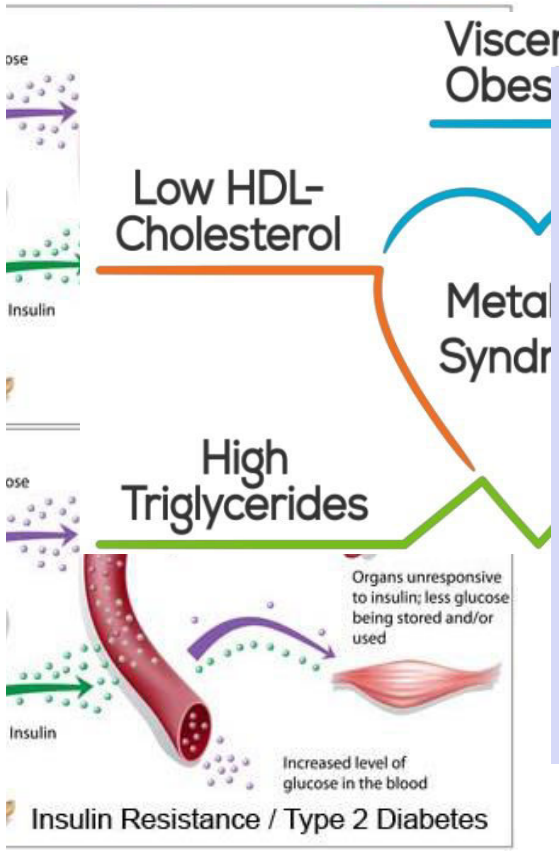
Julia Phieler, Kyoung-Jin Chung, Antonios Chatzigeorgiou, Anne Klotzsche-von Ameln, Ruben Garcia-Martin, David Sprott, Maria Moisidou, Theodora Tzanavari, Barbara Ludwig, Elena Baraban, Monika Ehrhart-Bornstein, Stefan R. Bornstein, Hassan Mziaut, Michele Solimena, Katia P. Karalis, Matina Economopoulou, John D. Lambris and Triantafyllos Chavakis

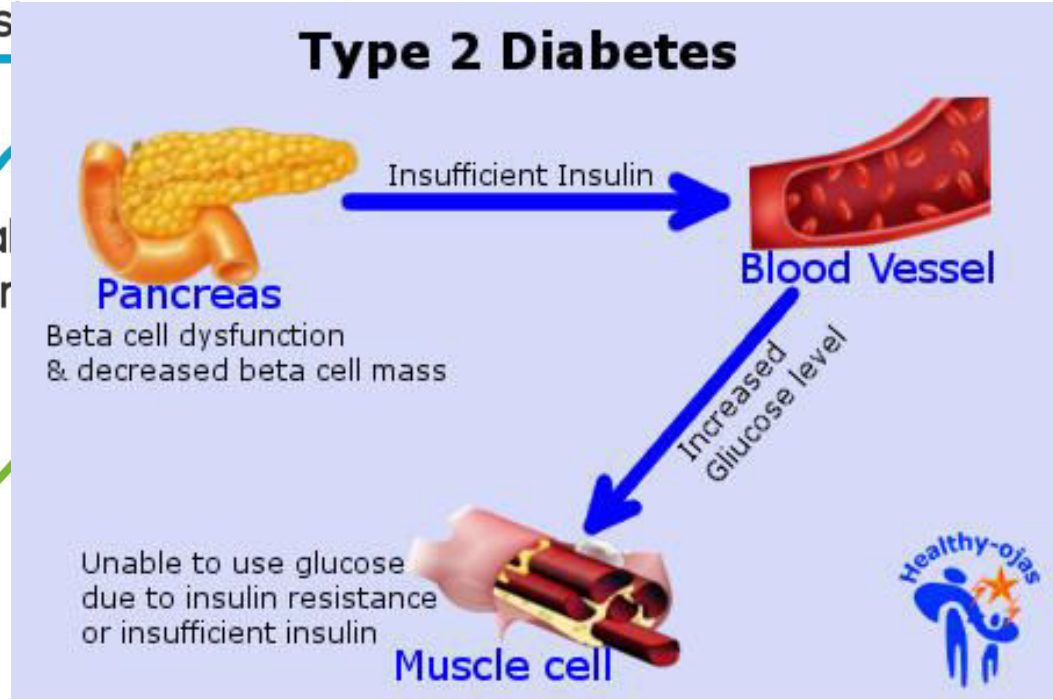
J Immunol 2013; 191:4367-4374; Prepublished online 16 September 2013;
doi: 10.4049/jimmunol.1300038
http://www.jimmunol.org/content/191/8/4367

Receptor pro anafylatoxin C5a přispívá k zánětu tukové tkáně a k inzulinové rezistenci

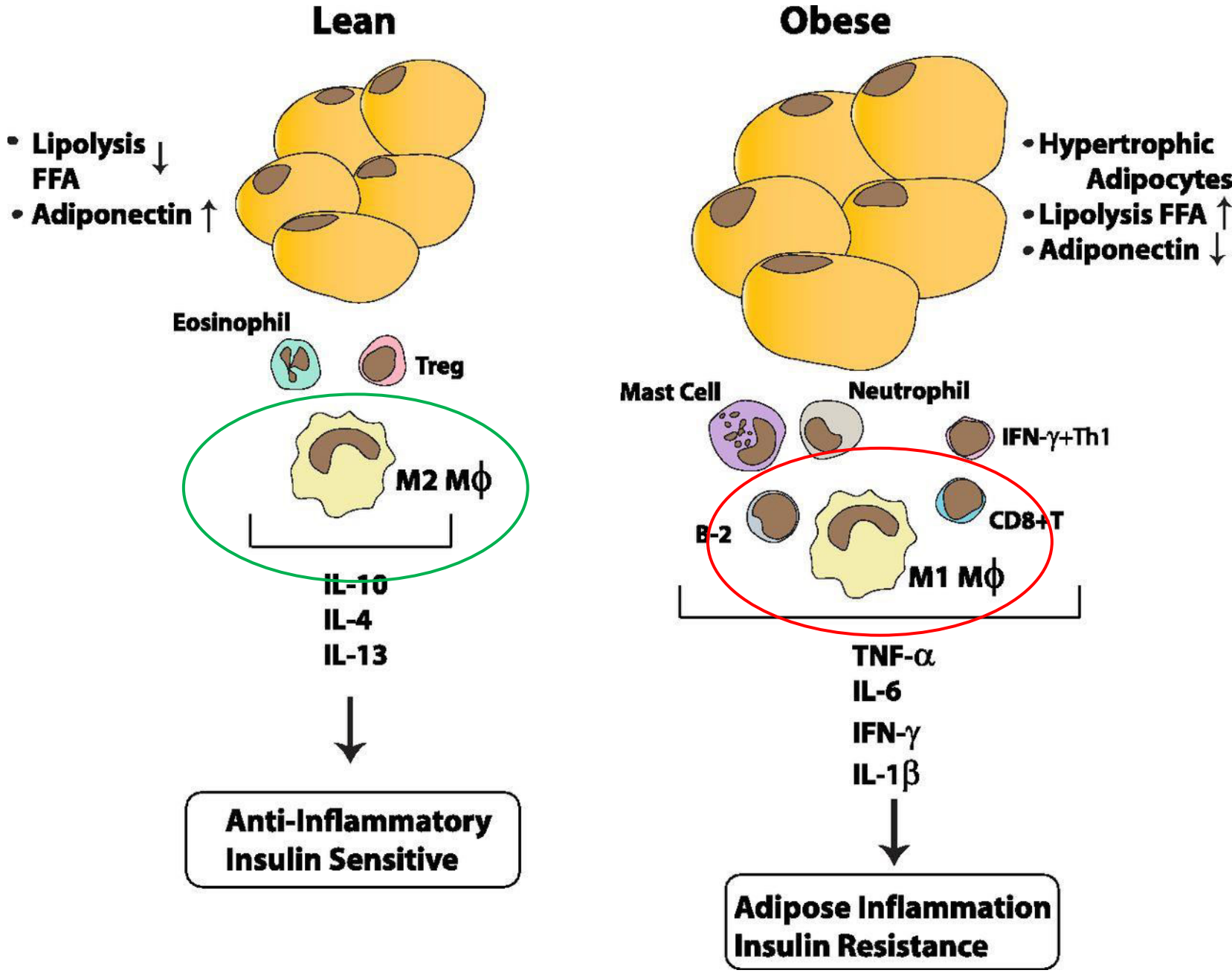
Úvod

Obezita → Inzulinová rezistence → Metabolický syndrom → Diabetes mellitus II





Zánět tukové tkáně



Komplement

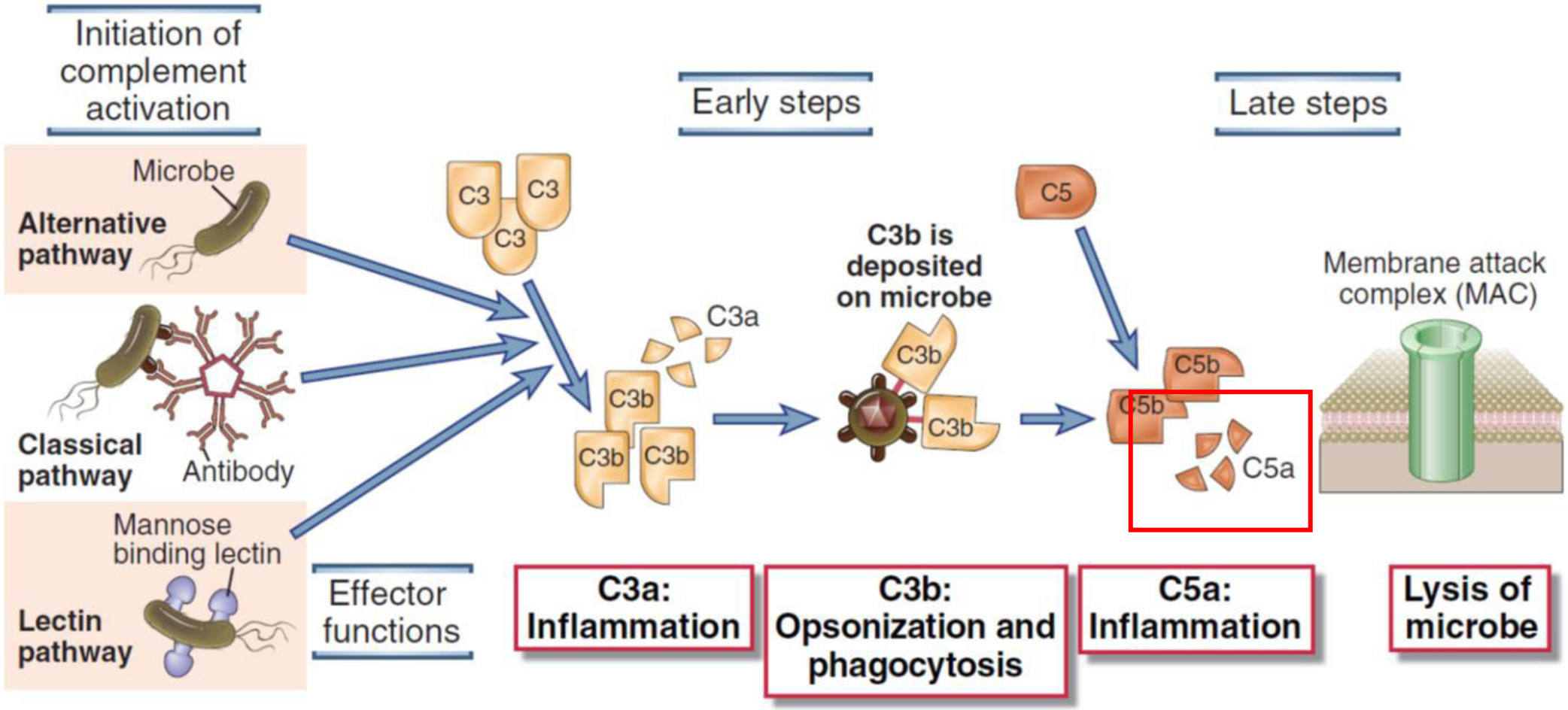


FIGURE 4–9 Pathways of complement activation. The activation of the complement system may be initiated by three distinct pathways, all of which lead to the production of C3b (the early steps). C3b initiates the late steps of complement activation, culminating in the production of peptides that stimulate inflammation (C5a) and polymerized C9, which forms the membrane attack complex, so called because it creates holes in plasma membranes. The principal functions of major proteins produced at different steps are shown. The activation, functions, and regulation of the complement system are discussed in much more detail in Chapter 12.

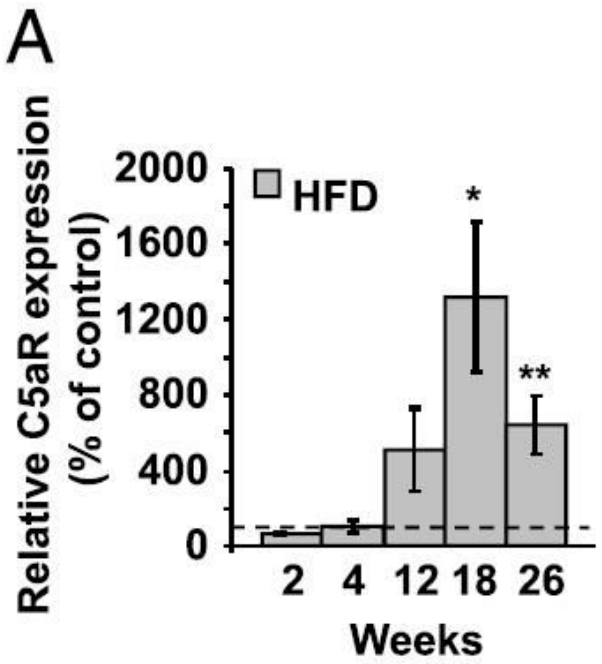
Cíl a metody

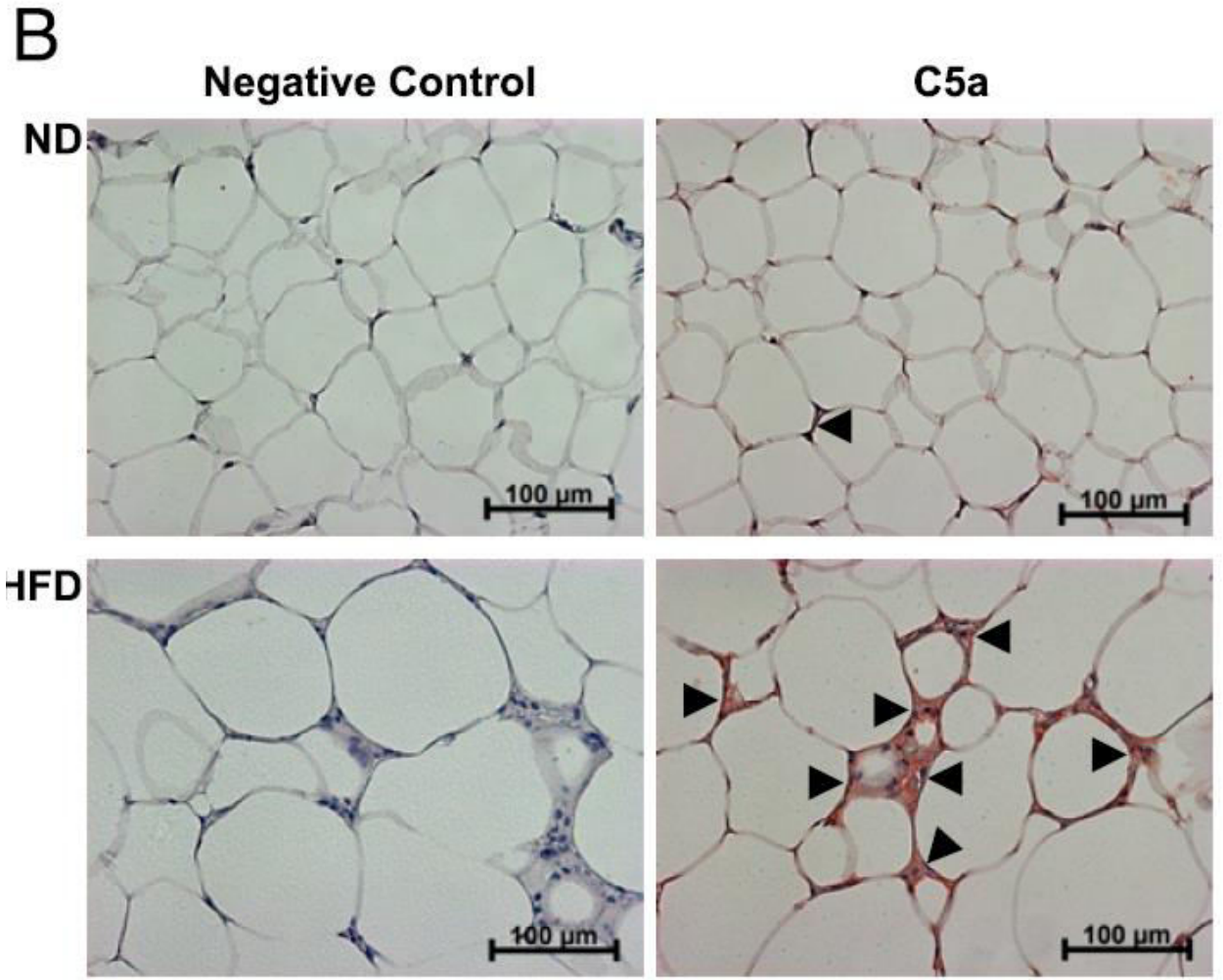
- Bylo už zjištěno, že C3aR-KO myši mají snížený zánět, nepřibírají a mají lepší fyziologické známky
- O propojení C5a-C5aR není nic známo
- C5aR-KO a WT (wild type) myši kmene C57BL/6J byly krmeny vysokotučnou a kontrolní dietou (60% resp. 10% kalorií z tuku)
- Všechny skupiny byly hodnoceny – váha myší a orgánů, velikost adipocytů, glukózová tolerance, inzulinová rezistence, akumulace leukocytů v tukové tkáni, vliv na játra, vliv na pankreas

exprese C5aR a přítomnost C5a stoupá při DIO (Diet induced obesity)

n=3-5 myší
průměr +/- SEM

18 týdnů





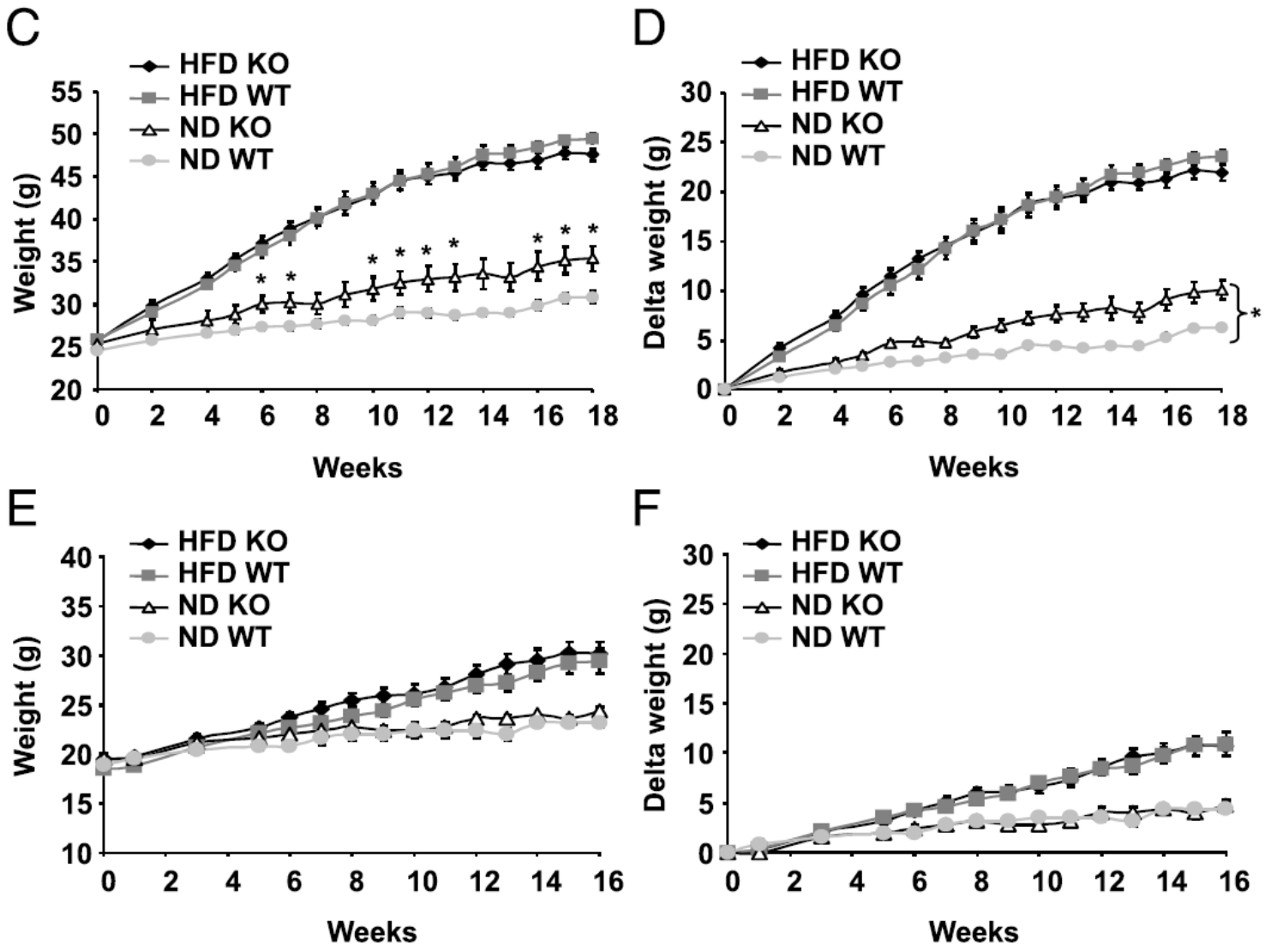
Vysokotučná a kontrolní dieta

n=5-19

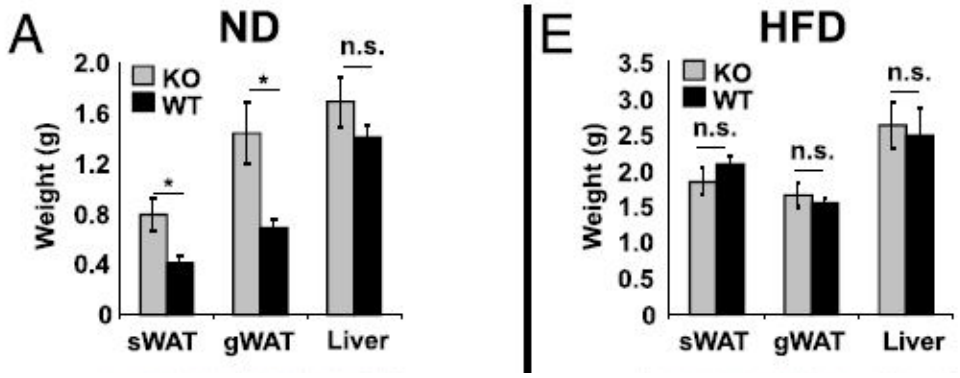
♂

n=5-17

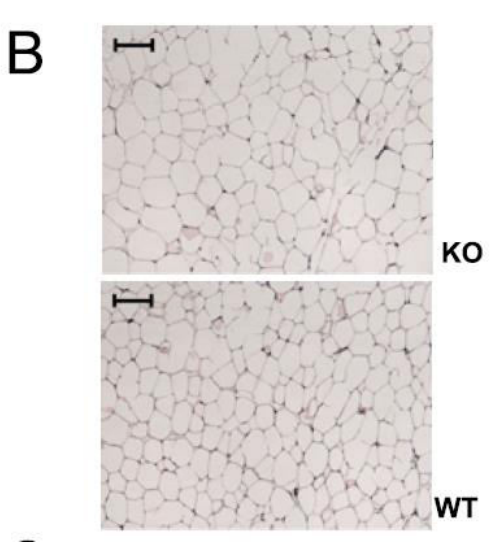
♀

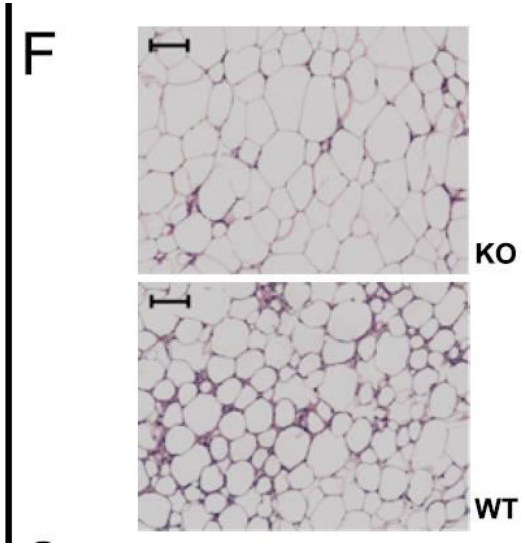


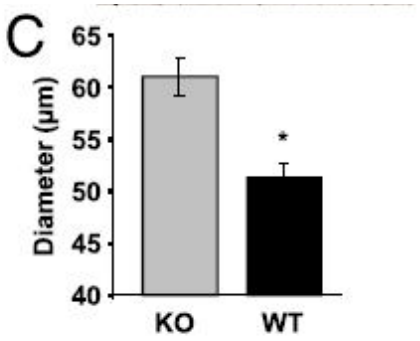
Hmotnost orgánů a velikost adipocytů

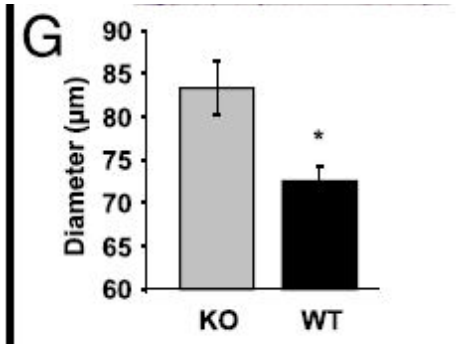


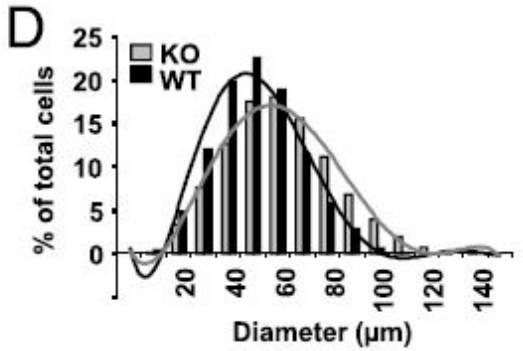
28 týdnů
n=6-7
průměr +/- SEM
*=p<0,05

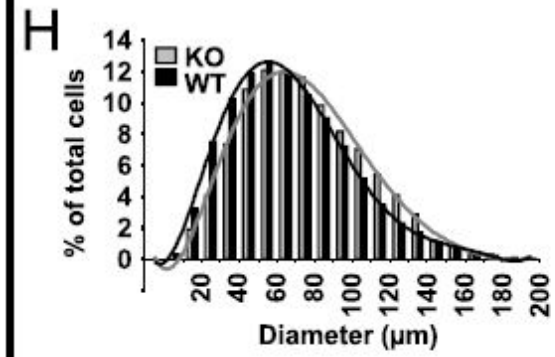




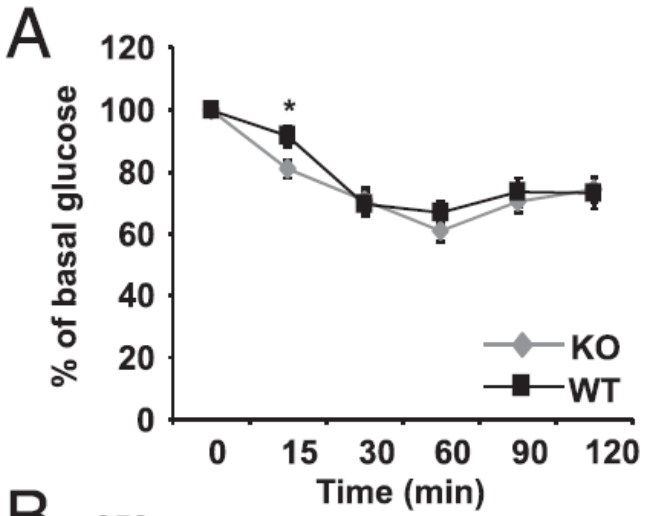


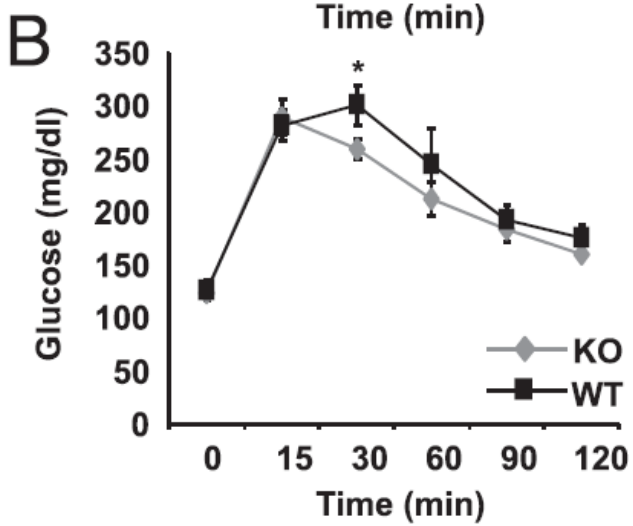






Glukózová tolerance a rezistence k inzulinu

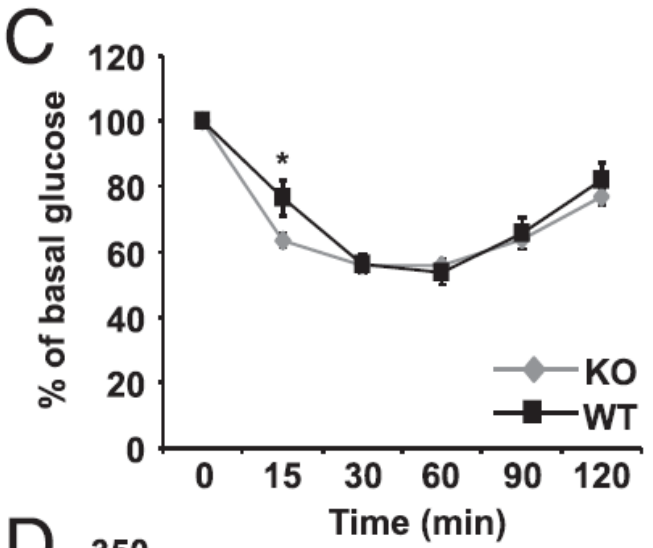


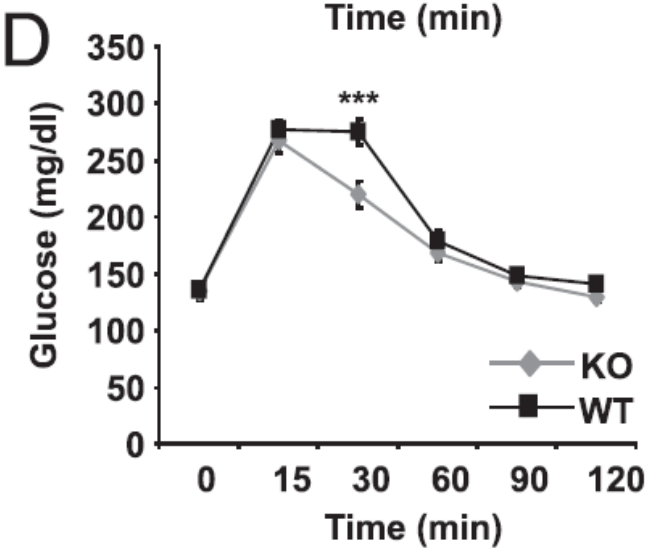


♂ ♀

inzulín (1 U/kg injikován i.p. po 6h bez jídla
měřená hladina glukózy z ocasu

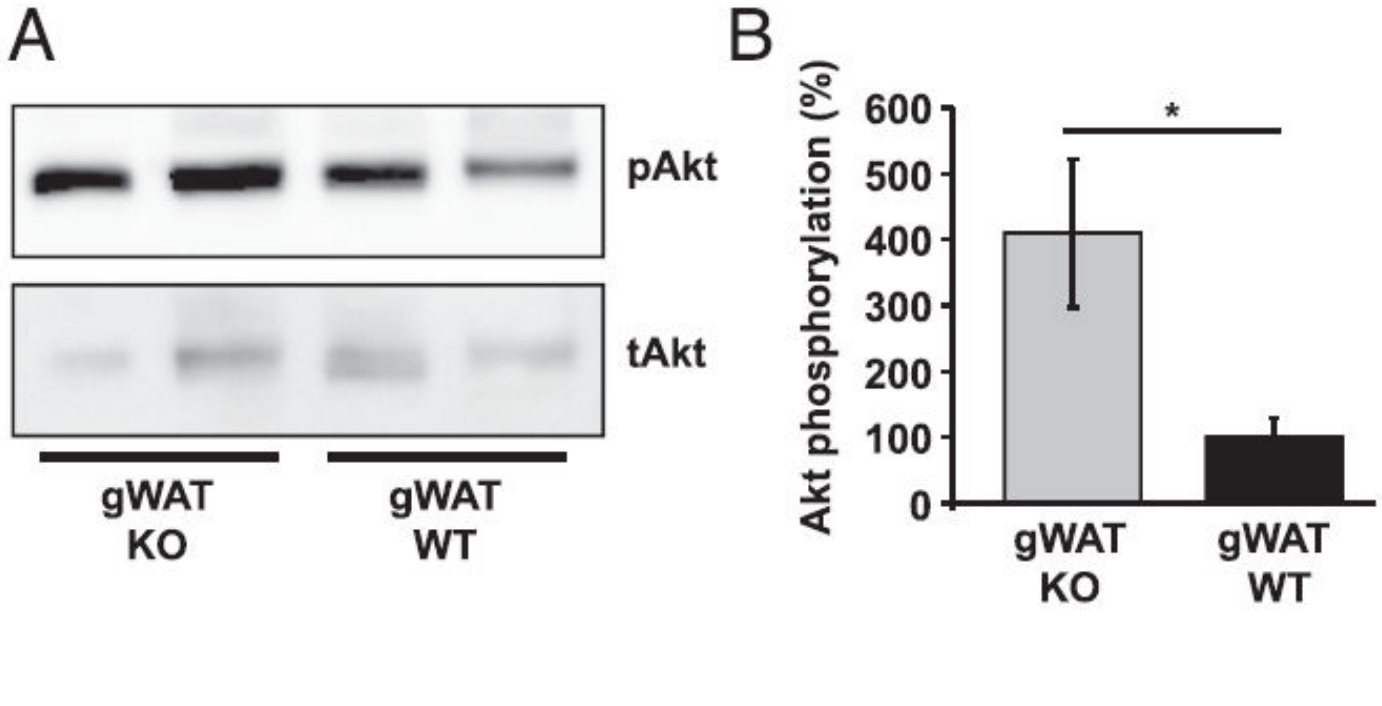
10% glukóza (1 g/kg i.p. po 24h bez jídla)
měřená hladina glukózy z ocasu





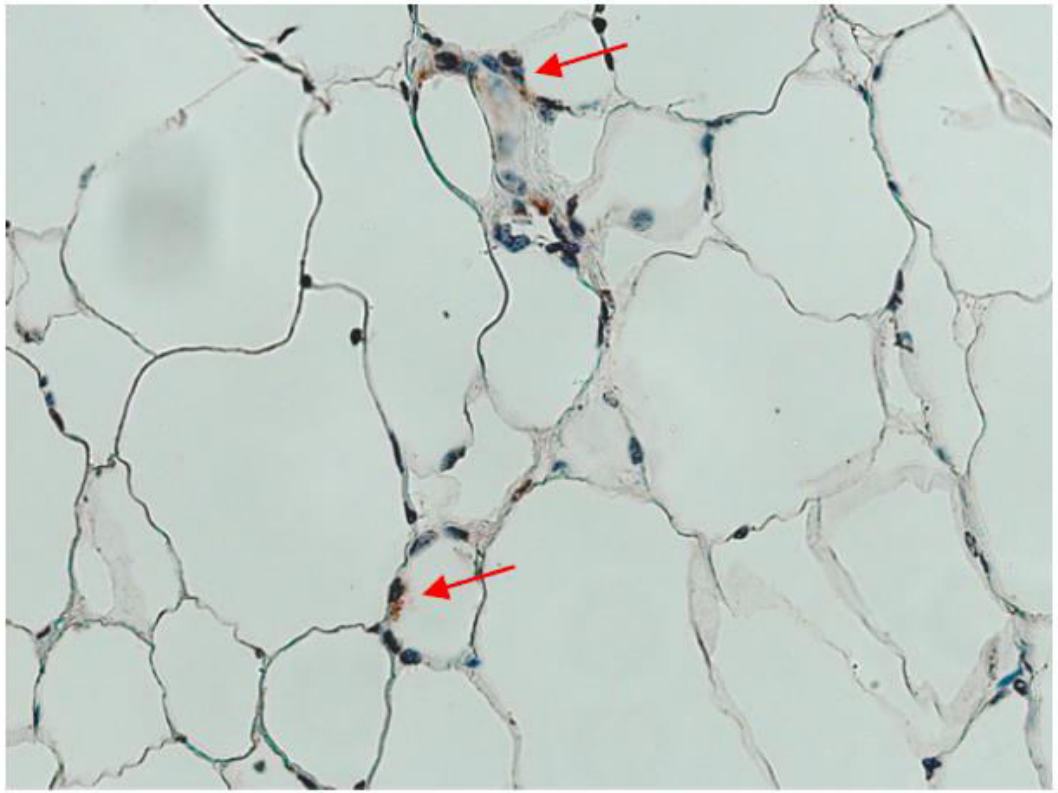
C5a deficience vede k lepší citlivosti na inzulin

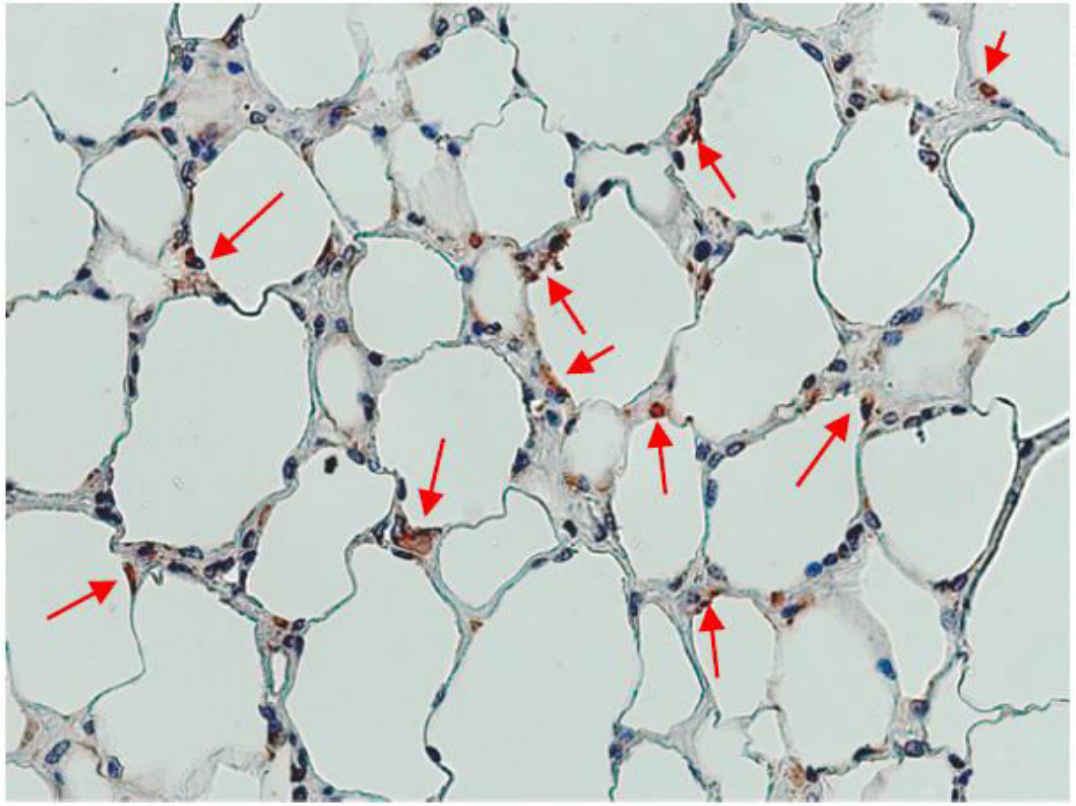
- Myši ♂ byly 28 týdnů na HFD, 24 h bez jídla a poté injikovány insulinem
- Po 8 minutách byly usmrceny a gWAT (gonadal White Adipose Tissue) bylo odebráno
- Z gWAT byl připraven lyzát a změřena fosforylace Akt pomocí Western Blotu
- n=4



C5a deficience vede k nižší akumulaci MF v tukové tkáni (gWAT)

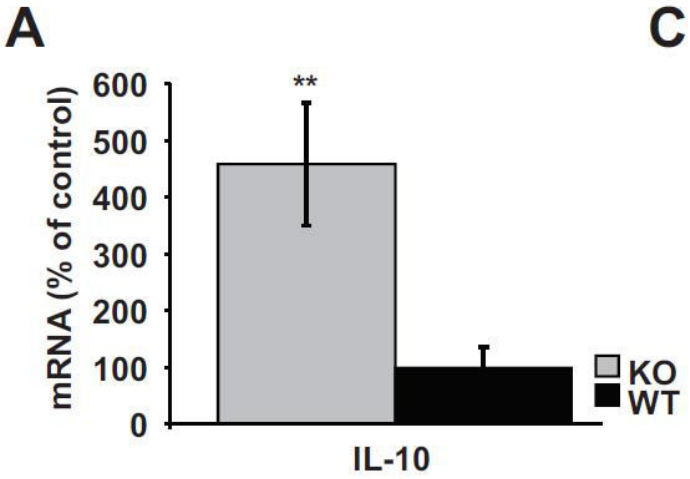
20 týdnů HFD
Značeno F4/80 protilátkou

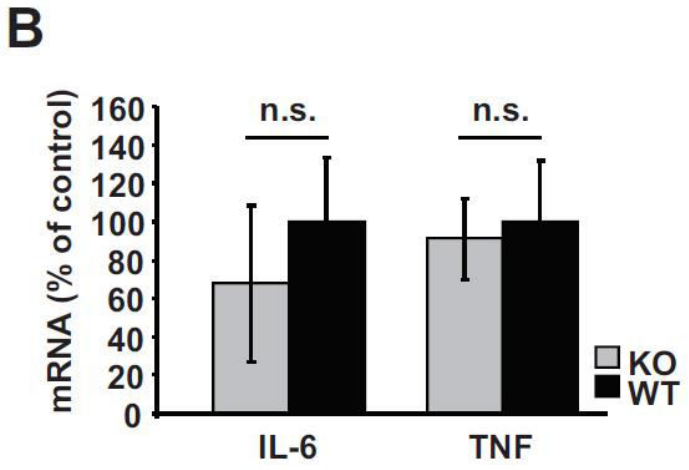


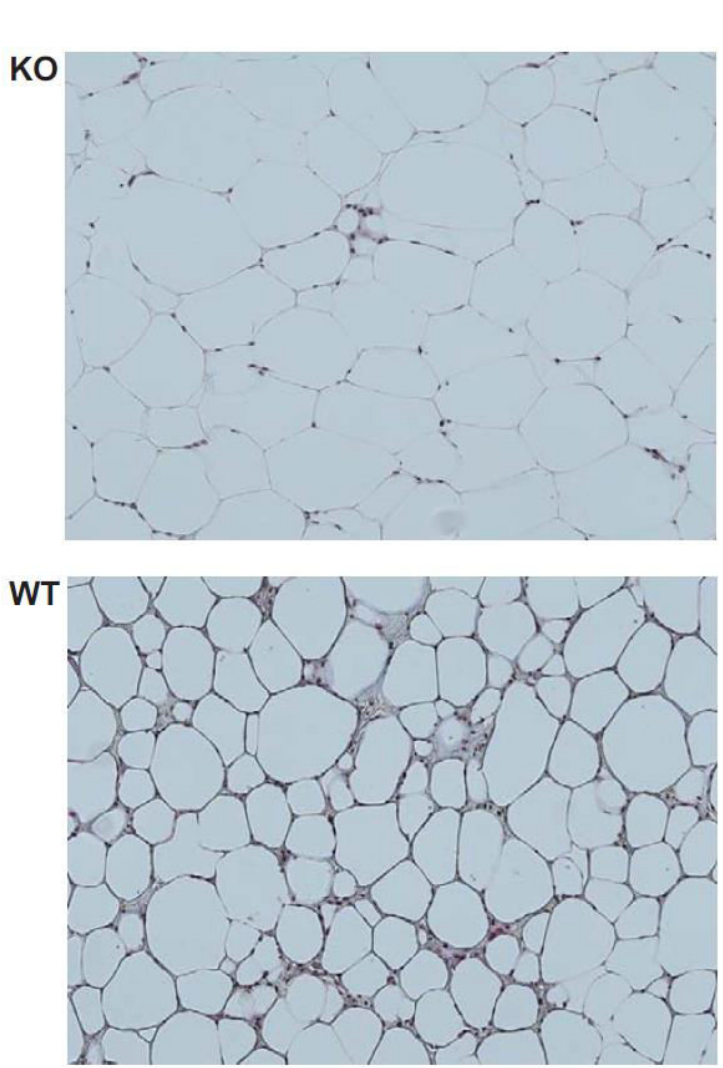


C5a deficientní myši jsou chráněné před fibrózou gWAT a zánětem

qPCR
Imunohistochemie – Masonovo trochromové barvení

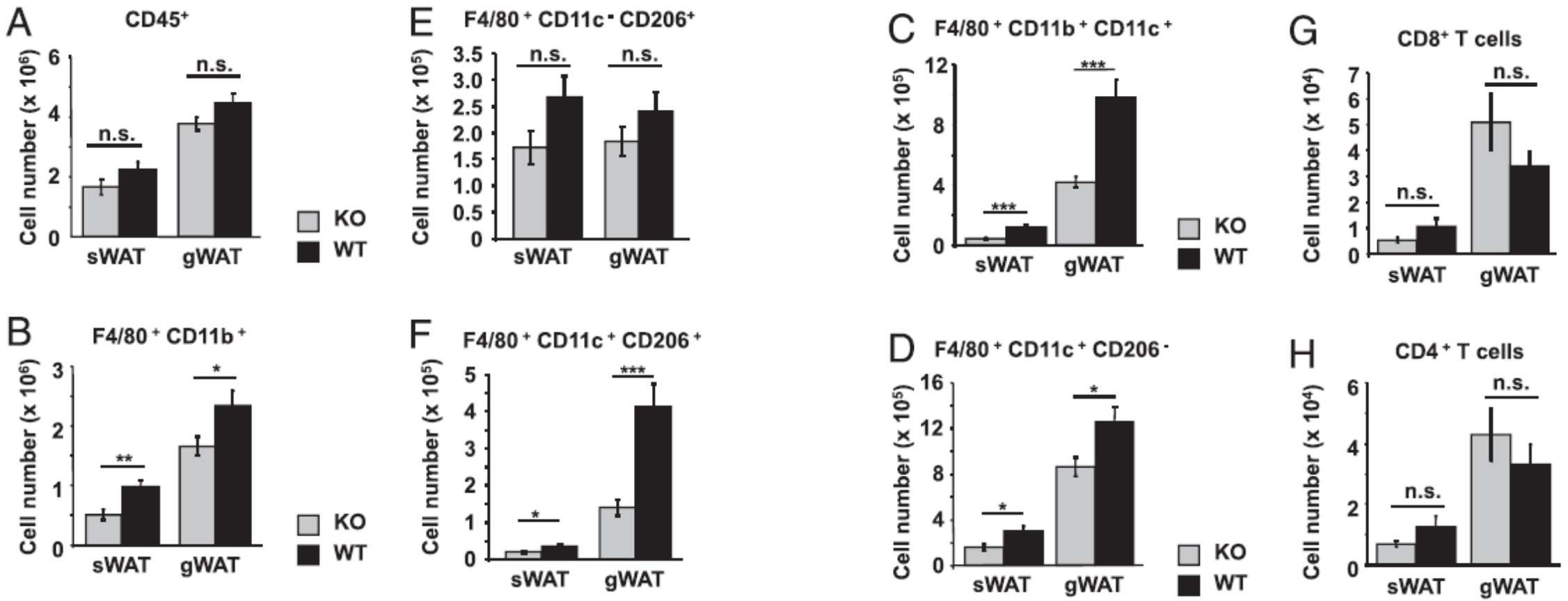




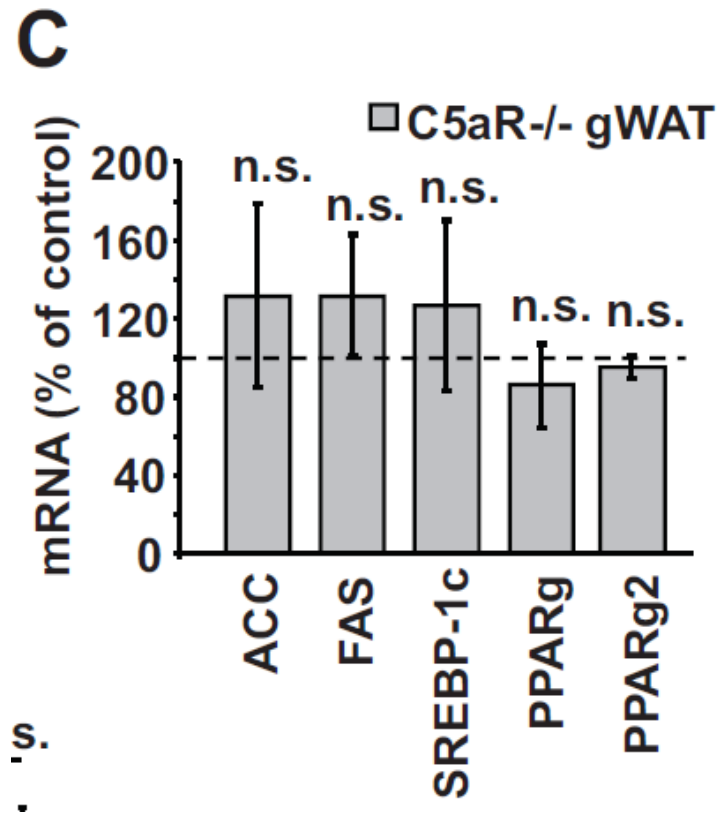


Analýza leukocytů v gWAT – C5a deficience vede k nižšímu počtu prozánětlivých MF

20 týdnů HFD, n=8-9



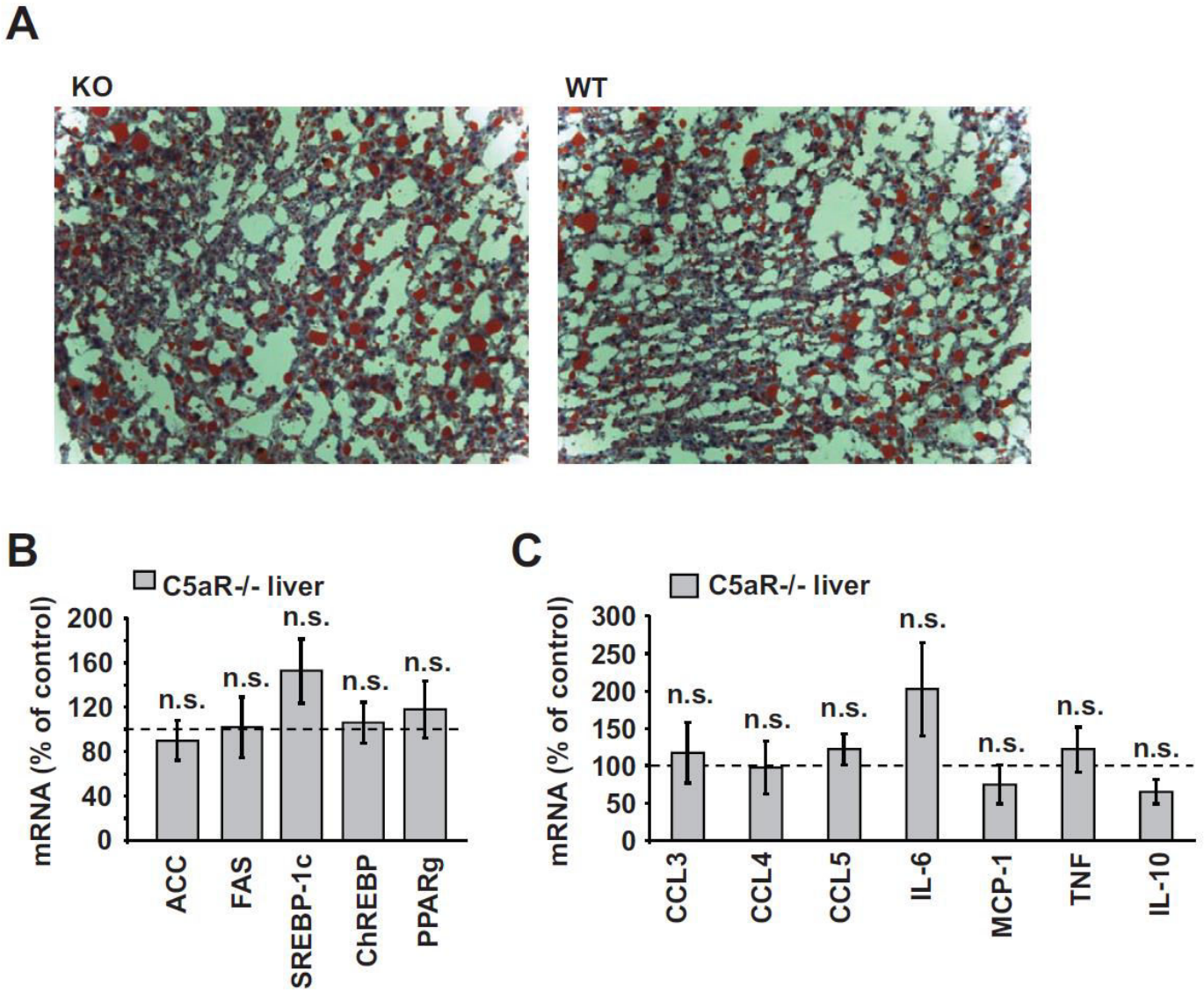
Žádná změna v lipogenezi gWAT



qRT-PCR
n=5-6
po 20 týdnech

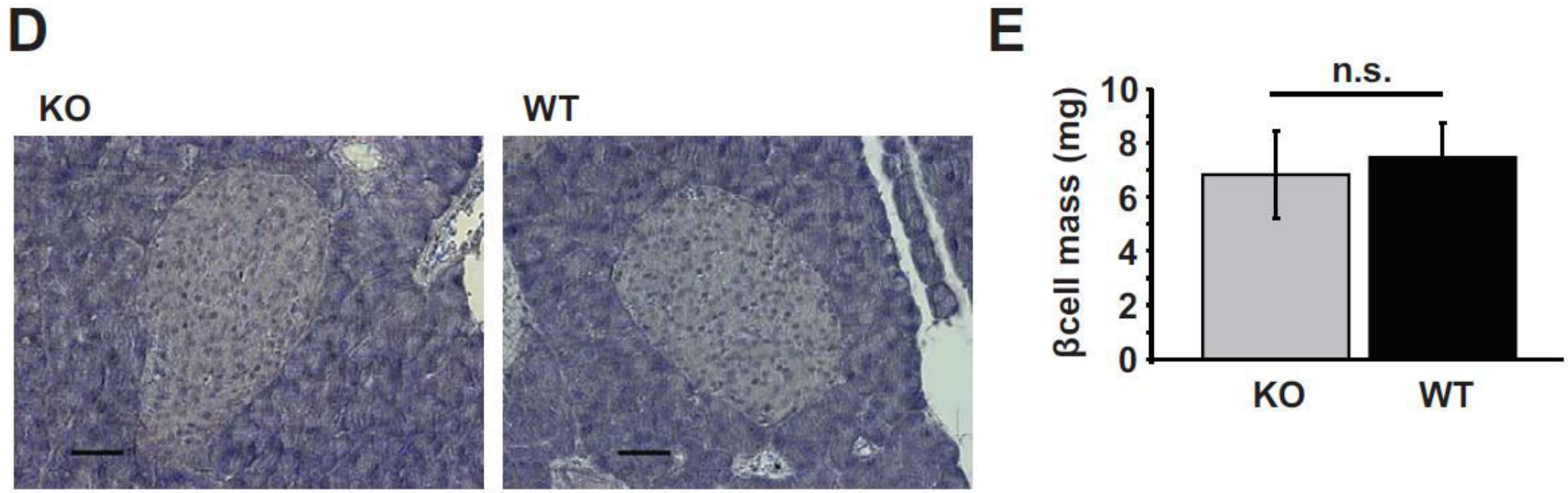
Žádný vliv C5a deficience na hepatosteatózu ani zánět v játrech

Oil-red-O barvení
qPCR
20 týdnů HFD
n=6



Žádný vliv C5a deficience na pankreas a beta buňky

Barvení inzulínu na řezech pankreatem
množství měřeno plochou Langerhansových ostrůvků



Shrnutí

- V modelu obezity navozené vysokotučnou dietou byl studován vliv C5a na obezitu a na zánět tukové tkáně
- C5aR deficientní myši (C5aR-/-) byly porovnány s C57BL/6J (wild type)
- C5aR deficientní samci vykazovaly menší váhový přírůstek a zlepšené parametry zánětu v gonadální tukové tkáni
- Nebyl pozorován vliv na játra ani na pankreas