

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Mgr. Matej Vicen

Školitel: prof. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Názov dizertačnej práce: Membránový endoglin a jeho úloha v patogenéze endotelovej dysfunkcie v podmienkach *in vitro*

Membránový endoglin (Eng) je transmembránový glykoproteín, ktorý plní úlohu ako pomocný receptor v signalizačnej kaskáde transformujúceho rastového faktoru β (TGF β). V posledných rokoch bola jeho expresia a funkcia intenzívne študovaná hlavne vo vzťahu k funkcii endotelu za rôznych patologických podmienok, vrátane hypercholesterolémie a aterosklerózy, avšak jeho úloha v rozvoji endotelovej dysfunkcie zostáva kontroverzná. Eng prispieva k tvorbe oxidu dusnatého (NO) a je nenahraditeľný v podmienkach *in vivo* pre vývoj krvného riečiska a srdca. Na druhej strane môže zohrávať dôležitú úlohu v zápalovej infiltrácii leukocytov a adhézií trombocytov na endotel, a tým prispievať k rozvoju endotelovej dysfunkcie ako prvej fázy v rozvoji aterosklerózy.

Pre štúdium krátkodobých účinkov látok a liekov na endotel sa využívajú endotelové bunky izolované z rôznych ciev. Jedným z efektov sledovaných na bunkových kultúrach zložených z endotelových buniek je schopnosť látky navodiť stav endotelovej dysfunkcie. Endotelová dysfunkcia je v podmienkach *in vitro* definovaná ako stav so zvýšenou expresiou adhézných molekúl a zvýšenou adhéziou a transmigráciou buniek imunitného systému cez endotelovú vrstvu.

V tejto dizertačnej práci sme sa zamerali na štúdium efektov solubilného endoglinu (sEng), oxidovaných cholesterolov a vybraných sekrétov makrofágov na cievny endotel. Hlavný dôraz bol kladený na sledovanie expresie membránového endoglinu (Eng), expresie jednotlivých členov jeho signalizačnej kaskády a expresie prozápalových biomarkerov endotelovej dysfunkcie vo vzťahu k rozvoju endotelovej dysfunkcie *in vitro*.

V prvej štúdií sme sa zamerali na úlohu sEng v procese rozvoja endotelovej dysfunkcie. Ľudské endotelové bunky z umbilikálnej cievy (HUVEC) boli vystavené pôsobeniu sEng v dávke 40 alebo 500 ng/mL po dobu 16 hodín. Zaznamenali sme nielen indukciu zápalovej odpovede vo forme zvýšenej aktivity nukleárneho faktoru kappa B (NF- κ B) a interleukínu-6

(IL-6), ale aj zvýšenie syntézy membránového endoglínu, čo naznačuje prozápalové účinky solubilného endoglínu a významnú úlohu membránového Eng v skorých fázach rozvoja endotelovej dysfunkcie.

V nasledujúcej štúdií sme sa zamerali na úlohu Eng v rozvoji endotelovej dysfunkcie indukovanej oxidovaným cholesterolom. V tomto prípade sme použili ľudské aortálne endotelové bunky (HAEC) premedikované rôznymi oxidovanými cholesterolmi (oxysterolmi). Z použitých oxysterolov bol schopný vyvolať endotelovú dysfunkciu iba 7-ketocholesterol (7K). 7K bol schopný zvýšiť expresiu adhézných molekúl a Eng ako aj zvýšiť adhéziu a transmigráciu monocytov cez endotelovú vrstvu. Zníženie expresie Eng prostredníctvom génového utlmenia malo za následok zníženie adhézie a transmigrácie monocytov cez membránu. Výsledky tejto štúdie zdôrazňujú zásadný význam Eng v rozvoji endotelovej dysfunkcie *in vitro*.

Na záver sme sa rozhodli zamerať na efekt zníženého množstva Eng na povrchu endotelových buniek na ich funkciu. HUVEC bunky boli inkubované v médiu obsahujúcom makrofágmi nasyntetizovanú matrixovú metaloproteinázu 12 (MMP12). MMP12 bola schopná odštepovať Eng z povrchu buniek, čo malo za následok rozvoj endotelovej dysfunkcie charakterizovaný zníženou schopnosťou buniek tvoriť cievy a zaceľovať poranenia v podmienkach *in vitro*.

Výsledky tejto dizertačnej práce teda potvrdzujú význam fyziologickej expresie membránového endoglínu endotelovými bunkami a poukazujú na to, že zásadné zmeny v expresii Eng môžu viesť k rozvoju patologických zmien v cievnom endoteli.