

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Mgr. Barbora Vitverová

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

Název disertační práce: Solubilní endoglin a jeho role v patogenezi endotelové dysfunkce

Endotel je hlavním regulátorem cévní homeostázy a vykazuje řadu vasoprotektivních účinků, mezi něž patří produkce vasodilatačně působících substancí, potlačení růstu buněk hladké svaloviny či inhibice zánětlivých odpovědí. Většina těchto účinků je zprostředkována oxidem dusnatým (NO), nejučinnějším endogenním vasodilatátorem. Pokles v produkci či aktivitě NO vede k narušení endotel dependentní vasodilatace, což je charakteristický rys endotelové dysfunkce. Endotelová dysfunkce je prvním a zásadním krokem v rozvoji aterosklerózy a lze ji v cévách detekovat ještě před strukturálními změnami cévní stěny. Ateroskleróza je komplexní zánětlivé onemocnění, jež je podkladem mnoha kardiovaskulárních onemocnění, zejména ischemické choroby srdeční, a tvoří tak hlavní příčinu morbidity a mortality ve vyspělých zemích. Lékem volby v terapii aterosklerózy, potažmo ischemické choroby srdeční, jsou statiny, které prokazatelně snižují hladiny LDL cholesterolu a svými pleiotropními účinky příznivě moduluji funkci endotelu.

Pro studium aterosklerózy se v současné době nejčastěji využívají myší modely. Především díky snadným genetickým manipulacím a dietárním zásahům lze v relativně krátkodobém časovém horizontu docílit aterosklerotických změn. Tyto změny jsou detekovatelné na morfologické i funkční úrovni. Jednu ze zásadních rolí v tomto procesu má signalizační kaskáda transformujícího růstového faktoru β (TGF β).

Hlavním tématem publikací v této souhrnné disertační práci byla úloha tkáňového endoglinu (TGF β receptor III, Eng), jeho solubilní formy a dalších členů TGF β signalizační kaskády v rozvoji endotelové dysfunkce u vybraných myších modelů aterosklerózy. Role solubilní formy Eng (sEng) v tomto patologickém procesu byla hlavním předmětem zkoumání, jelikož zvýšené hladiny sEng byly detekovány u pacientů s hypercholesterolémií, aterosklerózou, arteriální hypertenzí a diabetem mellitem II. typu.

Pro objasnění role sEng v rozvoji endotelové dysfunkce jsme použili transgenní myší model s vysokou hladinou lidského sEng v plazmě (Sol-Eng⁺ high) a jako kontrolní skupinu jejich sourozence s nízkou hladinou lidského sEng v plazmě (Sol-Eng⁺ low). Myším byla

podávána vysokotuková dieta pro navození hypercholesterolémie, a tedy simulace patofyziologického podkladu u pacientů s aterosklerózou v klinické praxi. Výsledky studie prokázaly, že vysoké hladiny sEng v kombinaci s mírnou hypercholesterolémií rozvíjí fenotyp endotelové dysfunkce charakterizovaný signifikantně zhoršenou schopností aorty vasokonstrikce i vazodilatace u Sol-Eng⁺ high skupiny. Kombinace vysokých hladin sEng a hypercholesterolémie také vedla ke snížení exprese všech členů Eng/Smad 2/3/eNOS signalizační kaskády v aortě, což vedlo k narušení eNOS dependentní vasodilatace a následně k rozvoji endotelové dysfunkce.

Další studie byla zaměřena na časný rozvoj endotelové dysfunkce v aortě a ověření hypotézy, zda tento patologický jev je doprovázen změnami v expresi tkáňového Eng za současné změny hladin sEng a rozvoje zánětlivé odpovědi. Pro tuto studii byly použity apolipoprotein E/LDL receptor deficientní myši samice (ApoE^{-/-}/LDLR^{-/-}) ve věku 2 měsíců a jako kontrolní skupina C57BL/6J myši samice téhož věku. Myši byly krmeny standardní dietou, jelikož se očekával spontánní rozvoj hypercholesterolémie u ApoE^{-/-}/LDLR^{-/-} skupiny. Výsledky studie potvrzují, že hypercholesterolémie je doprovázena vysokými hladinami sEng, zánětlivou odpovědí a narušením metabolismu NO. Dále ze studie vyplývá, že hypercholesterolémie vede ke snížené expresi tkáňového Eng a všech členů jeho signalizace, což vede k rozvoji endotelové dysfunkce v aortě ApoE^{-/-}/LDLR^{-/-} skupiny.

Úloha sEng jakožto potenciálního induktoru endotelové dysfunkce, který přispívá k rozvoji hypertenze, byla zkoumána i na úrovni srdce. Pro tuto studii byl opět použit transgenický myší model (Sol-Eng⁺ high and Sol-Eng⁺ low skupina). Myším byla podávána standardní, nebo vysokotuková dieta. Cílem bylo zjistit, zda zvýšené hladiny sEng vyvolají změny na úrovni TGFβ signalizační kaskády (Eng, Smad proteiny), na úrovni exprese markerů reflektujících remodelaci srdce (PDGF, Co11A1) a také markerů zánětu (VCAM-1, ICAM-1). Výsledky studie neprokázaly signifikantní vliv zvýšených hladin sEng na morfologickou strukturu (fibrózní a degenerativní změny kardiomyocytů), rozvoj zánětu či ovlivnění exprese členů TGFβ signalizace.

Výsledky studií pomohly objasnit roli obou forem endoglinu v rozvoji endotelové dysfunkce. Snížená exprese tkáňového Eng doprovází rozvoj endotelové dysfunkce v myší aortě. Lze také konstatovat, že vysoké hladiny sEng mohou být považovány za rizikový faktor rozvoje kardiovaskulárních onemocnění.