

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Název diplomové práce: Vplyv blokácie endoglínu na zápalom indukovanú endotelovú dysfunkciu u ľudských aortálních endotelových buniek

Autor: Andrea Škubová

Vedúci diplomovej práce: PharmDr. Katarína Tripská, Ph.D.

Cieľ práce: Cieľom tejto diplomovej práce bolo popísať vplyv zápalu indukovaného prostredníctvom TNF- α a LPS na expresiu endoglínu a jeho transkripčných faktorov, expresiu biomarkerov endotelovej dysfunkcie, hladinu solubilného endoglínu a adhéziu a transmigráciu monocytov cez ľudské aortálne endotelové bunky. Ďalej sme chceli objasniť vplyv blokácie endoglínu prostredníctvom monoklonálnej protilátky TRC105 (carotuximab) na tieto procesy.

Metódy: V tejto diplomovej práci boli použité ľudské aortálne endotelové bunky (HAEC), ktoré boli vystavené po dobu 16 hodín pôsobeniu TNF- α (10 ng/ml) a LPS (100 ng/ml) a po dobu 12 hodín pôsobeniu TRC105 (300 μ g/ml). Metódou real-time qRT-PCR sme merali mRNA expresiu endoglínu a jeho transkripčných faktorov (KLF6, RelA, NR1H3), mRNA expresiu zápalových adhézných molekúl (ICAM-1, VCAM-1, SELE) a mRNA expresiu enzýmu MMP-14. Pomocou prietokovej cytometrie sme detekovali proteínové hladiny endoglínu, proteínové hladiny zápalových adhézných molekúl (ICAM-1, VCAM-1), počet adherovaných THP-1 monocytov a počet transmigrovaných THP-1 monocytov cez bunky. Pre meranie hladiny solubilného endoglínu sme použili metódu ELISA.

Výsledky: Samotné TRC105 nemalo signifikantný vplyv na mRNA expresiu endoglínu a jeho transkripčných faktorov, no v prípade proteínovej expisie endoglínu viedlo k signifikantnému zníženiu hladín. TRC105 zásadne neovplyvnilo proteínovú expresiu adhézných molekúl ani transmigráciu, avšak bolo schopné znížiť adhéziu monocytov k endotelovým bunkám. Stimulácia buniek prostredníctvom TNF- α a LPS spôsobila signifikantné zníženie proteínovej expisie endoglínu, zvýšenie hladín solubilného endoglínu a proteínovej expisie zápalových adhézných molekúl a zvýšenie adhézie monocytov, no nemala vplyv na transendotelovú

migráciu monocytov. Pridanie TRC105 k bunkám stimulovaným TNF- α a LPS viedlo k významnému zníženiu proteínovej expzie endoglnu, no nemalo zásadný vplyv na expresiu adhézných molekúl. Len v prípade TNF- α indukovaného zápalu viedla prítomnosť TRC105 k zníženiu adhézie monocytov. TRC105 významne neovplyvnil ani TNF- α , ani LPS stimulovanú transmigráciu.

Záver: Výsledky preukázali, že pridanie TRC105 k bunkám stimulovaným TNF- α viedlo k výraznému zníženiu proteínovej expzie endoglnu, čo môže predchádzať TNF- α indukovanej adhézií monocytov. Tieto výsledky naznačujú, že endogln sa podieľa na rozvoji endotelovej dysfunkcie navodenej TNF- α , a teda že endogln by potenciálne mohol byť zaujímavým farmakologickým cieľom u ochorení so zápalovou etiológiou.

Kľúčové slová: TRC105, endogln, endotelová dysfunkcia, zápal