

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Název diplomové práce: Vliv endoglinu na aktivaci jaterní fibrózy *in vitro*

Autor: Adéla Břejčáková

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Petra Fikrová, Ph.D.

Jaterní fibróza je dynamický proces charakteristický přeměnou jaterních hvězdicovitých buněk (HSC) na proliferativní myofibroblasty. Endoglin, který je vysoce exprimovaný v HSC, je transmembránovým glykoproteinem a působí jako koreceptor pro vazbu na transformující růstový faktor β (TGF- β). Jeho zvýšená exprese je spojována s patologickými stavy a je tedy významným markerem nádorových onemocnění, kardiovaskulárních onemocnění a dalších. Z tohoto důvodu je endoglin cílovou molekulou pro terapeutické intervence. Carotuximab (TRC105) je monoklonální protilátka proti endoglinu. Váže se na sirotčí doménu endoglinu a ovlivňuje jeho signální dráhu prostřednictvím fosforylace SMAD.

Cíl práce: Cílem práce bylo zjistit, zda je carotuximab schopný snížit expresi endoglinu a tím zamezit rozvoji, nebo omezit progresi jaterní fibrózy v lidských jaterních hvězdicovitých buňkách.

Metody: Pro experimentální část jsme využili lidské HSC v pasáži č.3. Buňky byly kultivovány do dosažení 90% konfluency, poté byly ovlivněny médiem bez FBS obsahujícím 300 $\mu\text{g/ml}$ TRC105 po dobu 4 hodin. Následně byla indukovaná fibróza přidáním TGF- β při koncentraci 5 ng/ml po dobu 24 hodin. Pro měření vybraných markerů jaterní fibrózy a její signální dráhy, které zahrnují kolagen, αSMA a SMAD2/3, stejně jako endoglin byly vybrány metody RT-PCR a průtoková cytometrie.

Výsledky a závěr: Výsledky ukázaly, že ovlivněním buněk pomocí TGF- β došlo k nárůstu markerů fibrózy (kolagen, αSMA) a endoglinu na úrovni mRNA. Po přidání protilátky (TRC105) došlo k snížení TGF- β indukované nadměrné expresi endoglinu, což mělo za následek podobné účinky na kolagen a αSMA , a zároveň vedlo ke snížení exprese pSMAD 2/3. Výsledky ukazují, že endoglin může hrát roli v procesu jaterní fibrózy a naznačují, že přímé blokování endoglinu a jeho signální dráhy, by mohlo mít ochranný antifibrotický efekt klíčový pro léčbu jaterních patologií.