

Ateroskleróza je jednou z hlavních příčin kardiovaskulárních onemocnění. Jde o chronické zánětlivé onemocnění, charakterizované endoteliální dysfunkcí s následným hromaděním lipidů, leukocytů, hladkých svalových buněk a extracelulární matrix v intimě cév, což má za následek zužování cévního lumen s následnou redukcí až obstrukcí cévního průtoku. Na počátku aterogenního procesu je změna funkce endotelu tzv. endoteliální dysfunkce. Dochází k expresi adhezních molekul a ke zvýšené propustnosti endotelu pro monocyty, T lymfocyty a také lipoproteinové částice. Spouští se bludný kruh aterosklerotického procesu.

Mezi nejvýznamnější adhezní molekuly, které se uplatňují na počátku aterogeneze patří zejména zástupci imunoglobulinové skupiny a to VCAM-1 (vascular cell adhesion molekule-1), ICAM-1 (intracellular cell adhesion molekule-1) a PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molekule-1). VCAM-1 a ICAM-1 jsou transmembránové glykoproteiny, které se podílejí na stabilizaci vazby leukocytů k endotelu a podílejí se na jejich diapedezi. Expres těchto adhezních molekul je ovlivňována řadou faktorů, které se uplatňují i v patogenezi aterosklerózy.

V rámci této disertační práce jsme se zaměřili na endoteliální expresi adhezních molekul VCAM-1 a ICAM-1 a její změny po podávání atorvastatinu a dalších látek u několika myších modelů aterosklerózy.

Porovnávali jsme účinky krátkodobého podávání simvastatinu, atorvastatinu a MDOCTM na endoteliální expresi VCAM-1 a ICAM-1 u apoE-deficientních myší. Myši byly krmeny standardní dietou s přídatkem simvastatinu, atorvastatinu a MDOCTM po dobu 4 týdnů. Byla provedena biochemická analýza a imunohistochemická detekce exprese VCAM-1 a ICAM-1, která byla kvantifikována pomocí stereologických metod. Tato studie přinesla zejména nové poznatky o látce MDOCTM. Prokázali jsme, že má potenciální hypolipidemické a protizánětlivé účinky. Také jsme potvrdili protizánětlivé účinky atorvastatinu nezávislé na jeho hypolipidemickém účinku.

Dále jsme porovnávali vliv 8 týdenního podávání atorvastatinu na endoteliální expresi těchto dvou molekul u apoE-deficientních myší a C57BL/6J myší, krmených standardní nebo aterogenní dietou. Prokázali jsme, že u myší C57BL/6J exprese adhezních molekul nesouvisí s hladinou cholesterolu v krvi. Potvrdili jsme, že statiny působí protizánětlivě i jiným mechanismem než snižováním hladiny lipidů v krvi, neboť 8 týdenní podávání statinů snížilo expresi adhezních molekul u myší C57BL/6J krmených standardní dietou a to bez ovlivnění hladin lipidů v séru.

V další studii jsme sledovali účinky atorvastatinu u relativně nového myšího modelu aterosklerózy - apoE/LDLr deficientních myší. Sledovali jsme vliv na hladiny lipidů v séru, vliv na hladinu monocytárního chemotaktického proteinu (MCP-1), ovlivnění velikosti aterosklerotických lézí a také ovlivnění exprese adhezních molekul VCAM-1 a ICAM-1. Prokázali jsme hypolipidemické a protizánětlivé účinky statinů i u tohoto myšího modelu. Předpokládáme, že právě tento model by mohl být vhodným modelem pro studium účinku statinů a dalších látek, které by se daly využít v kombinační léčbě právě se statiny.

Druhou částí této disertační práce bylo určení lokalizace exprese endoglinu v cévě postižené aterosklerózou a ovlivnění této exprese hladinou cholesterolu v krvi a podáváním statinu.

Endoglin (CD 105) je komponenta TGF- β -receptorového komplexu, který zprostředkovává buněčnou odpověď na TGF- β 1. Je přítomný v endotelových buňkách, účastní se angiogeneze, kardiovaskulárního vývoje a cévní homeostázy. Jeho zvýšená exprese byla sledována na aktivovaných makrofázích, a také na endoteliálních buňkách ve tkáních, ve kterých probíhá angiogeneze, jako jsou hojící se rány, infarkty a celá řada nádorů. Zvýšená exprese je dokázána v hladkých svalových buňkách cév během zánětu, poranění a v aterosklerotických lézích.

V našich studiích na myších modelech aterosklerózy jsme prokázali expresi endoglinu zejména v oblasti aortálního oblouku, a to hlavně v buňkách aktivovaného endotelu, který pokrývá aterosklerotické léze a chlopně. Mimo to byl endoglin velmi silně exprimován buňkami kapilár v okolním myokardu.

Sledovali jsme vliv hladiny cholesterolu v krvi na endoteliální expresi endoglinu a také změny exprese po podávání atorvastatinu u myší kmene C57BL/6J. Hypercholesterolemie byla u myší navozena aterogenní dietou. U myší nedošlo k rozvoji aterosklerotických lézí, šlo tedy pouze o stadium endoteliální dysfunkce. Prokázali jsme, že exprese endoglinu souvisí s hladinou cholesterolu v krvi a je snížena po podávání statinů. Je tedy velmi pravděpodobné, že endoglin má svoji úlohu v procesu aterogeneze.

Pro potvrzení této myšlenky jsme v další studii sledovali expresi endoglinu a její ovlivnění u jiného myšího modelu aterosklerózy - apoE-deficientních myší. Myši byly krmené standardní dietou a atorvastatin byl podáván po dobu 4 a 8 týdnů. Ani u těchto myší nedošlo k rozvoji aterosklerotických lézí. Tato studie přinesla další informace o

expresi endoglinu během časně fáze aterogeneze. Potvrdili jsme, že zvýšená hladina lipidů v krvi zvyšuje expresi endoglinu a navíc se ukázalo, že atorvastatin snižuje jeho expresi nezávisle na svém hypolipidemickém účinku. Na základě výsledků těchto studií usuzujeme, že endoglin je možným markerem endoteliální dysfunkce.

V naší poslední studii, jsme se zaměřili na expresi endoglinu a expresi eNOS, p-Smad2/3 a Smad2 proteinu. V pokusech *in vitro* je prokázáno, že endoglin podporuje vazodilataci, zvyšuje expresi eNOS a to ovlivněním hladiny proteinu Smad2. My jsme sledovali expresi endoglinu, Smad2, p-Smad2/3 a eNOS *in vivo*, v cévách apoE/LDLr deficientních myší, které byly krmené aterogenní dietou. Současně jsme sledovali také vliv podávání statinu na expresi těchto markerů. U myší byly detekované výrazné aterosklerotické léze. Pomocí fluorescenční imunohistochemie jsme vyhodnotili kolokalizaci exprese endoglinu, Smad2, p-Smad2/3 a eNOS, která byla výrazná zejména na endotelu pokrývajícím aterosklerotické léze. Western blot analýza prokázala výrazně vyšší expresi endoglinu, Smad2, pSmad2/3 i eNOS v aortě po 8-týdením podávání atorvastatinu ve srovnání s neléčenou skupinou.

Při porovnání výsledků našich dosavadních studií můžeme říci, že endoglin je potenciální znak endoteliální dysfunkce a aterogeneze a může mít pravděpodobně antiaterogenní vlastnosti, ovšem jeho úloha je pravděpodobně závislá na stupni rozvoje aterosklerózy. Nicméně další studie by jeho úlohu v aterogenezi měly objasnit.