

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát **Mgr. Lenka Zemánková**

Školitel **Doc. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.**

Název disertační práce **Vliv statinů na TGF-β1 signalizační kaskádu in vivo a in vitro.**

Tato disertační práce je zaměřena na studium vlivu statinů a zánětu na TGF-β1 signalizaci, především na endoglin a jeho význam ve vztahu k endotelu, jak in vivo, tak in vitro.

Transformující růstový faktor beta (TGF β) je multifunkční růstový faktor, který reguluje řadu specifických buněčných pochodů v aterogenezi. Endoglin (TGF-βRIII, CD105) je považován za pomocný TGF β receptor, který může ovlivnit aktivitu TGF-β1 a dalších TGF-β receptorů. Byla popsána spojitost mezi endoglinem a expresí eNOS v cévách, což ukazuje na klíčovou roli endoglinu pro funkci endotelových buněk.

Naše in vivo experimenty byly zaměřeny na studium exprese členů TGF-β signalizace, na expresi endoglinu v myší aortě a jeho hladiny v séru. Dále jsme zjišťovali, zda jsou tyto proteiny ovlivněny cholesterolem či podáváním atorvastatinu v dietě. Imunohistochemická analýza prokázala lokalizaci endoglinu na endotelu cév bez aterosklerózy a také na povrchu aterosklerotických plátů. Dále byla pozorována kolokalizace endoglinu, Smad2, pSmad2/3 a eNOS na endotelu aorty. Podávání cholesterolové diety vedlo ke zvýšení hladin cholesterolu a zvýšení solubilního endoglinu, zároveň ke snížení exprese endoglinu v aortě.

Atorvastatin v kombinaci se standardní dietou zvýšil hladiny cholesterolu, ale hladiny endoglinu v séru zůstaly beze změny. Western blot analýza prokázala zvýšení exprese endoglinu a ostatních sledovaných proteinů TGF-β kaskády v myší aortě po podávání atorvastatinu, bez ohledu na jeho hypolipidemický účinek. Při podávání atorvastatinu v kombinaci s cholesterolovou dietou došlo k poklesu hladin cholesterolu a také hladin solubilního endoglinu, zároveň byla detekována jeho zvýšená exprese v aortě. Na základě těchto výsledků lze říci, že hladiny sérového endoglinu a jeho exprese v aortě se mění ve vztahu k hladinám cholesterolu a podávání atorvastatinu u ApoE/LDLR deficientního myšího modelu. Navíc bylo zjištěno, že hladiny sérového endoglinu jsou opačné vzhledem k jeho expresi v aortě. Zdá se tedy, že endoglin by mohl být zajímavý biomarker probíhající aterogeneze v cévní stěně či případně účinnosti statinové terapie. Navíc popisovaná aktivace endoglin/ALK5/Smad2/3 signalizace představuje možný mechanismus protekce cévní stěny vůči ateroskleróze.

V in vitro studii jsme se zaměřili na expresi endoglinu a eNOS během zánětu a po podávání atorvastatinu u endotelových buněk (HUVEC). Také jsme studovali, zda zvyšování exprese eNOS po podávání statinu je nějak spojeno s expresí endoglinu. Podávání atorvastatinu vedlo ke zvýšení exprese endoglinu a eNOS u HUVEC buněk. Naopak indukce zánětu, po podání TNFα po dobu 16h, vedla ke snížení exprese endoglinu a zároveň ke zvýšení jeho solubilní formy v médiu. Preventivní podávání atorvastatinu, před podáním TNFα, vedlo k zabránění poklesu exprese endoglinu a eNOS, který způsobuje samotný TNFα. Indukce zánětu tedy vede k poklesu exprese endoglinu a eNOS u endotelových buněk a podání atorvastatinu brání tomuto poklesu. Snížení exprese endoglinu u buněk se siRNA endoglinu ukázalo, že endoglin je pravděpodobně zásadní pro indukci exprese eNOS po podání statinů, protože siRNA endoglinu vedla k tomu, že takto ovlivněné buňky nejsou schopny zvyšovat expresi eNOS po podání atorvastatinu.

Endoglin a eNOS jsou významné v řadě patologických stavů jako je ateroskleróza, hypertenze, diabetes mellitus, preeklampsie a hereditární hemoragická teleangiektázie (HHT). Z těchto důvodů lze konstatovat, že účinky statinů na signalizaci endoglinu a jeho ovlivnění exprese eNOS by mohly vést k pozitivnímu účinku v procesu aterosklerózy, případně jiných onemocnění, u kterých dochází k poklesu endoglinu a eNOS jako je např. hereditární hemoragická teleangiektázie. Nicméně je nezbytné dosud získaná data ověřit v klinických studiích.