

Oponentský posudek

Název dizertační práce: Adheze monocytů k endotelu a aterogeneze

Autor: Mgr. Soňa Kauerová

Školitel: MUDr. Ivana Králová Lesná, Ph.D.

Dizertační práce Mgr. Soni Kauerové si klade za cíl přispět k objasnění mechanismů, jakým se zánět v tukové tkáni podílí na procesu aterogeneze. Jedná se o velice aktuální vědecké téma, kterému se tým Laboratoře pro výzkum aterosklerózy IKEM Praha úspěšně věnuje řadu let. Dizertační práce má 65 stran textu včetně citací. Úvodní-teoretická část pojednává o úloze endotelu a adhezi monocytů v procesu aterogeneze, dále pak o různých anatomických typech tukové tkáně a jejich vztahu ke kardiovaskulárním onemocněním. Další text je pak věnován vlastní vědecké práci: cílům, metodám, dosaženým výsledkům a diskuzi. Autorka ji rozdělila na tři dílčí problémy: 1. studium genové exprese zánětlivých mediátorů ve viscerální, perivaskulární a subkutánní tukové tkáni (VAT, PVAT, SAT) u pacientů s aterosklerózou periferních tepen (PVD) ve srovnání se zdravými dárči ledviny, 2. vliv adipocytokinů na adhezi monocytů k endotelu a 3. vztah rizikového faktoru non-HDL cholesterolu k vybraným makrofágovým fenotypům.

Z hlediska kardiovaskulárního rizika se největší význam tradičně připisuje zejména VAT, zatímco role SAT a PVAT nebyla doposud spolehlivě dořešena. Mgr. Kauerová ve své práci jasně prokazuje u pacientů s PVD oproti zdravým dárčům ledviny vyšší expresi genů pro tři typické cytokiny tukové tkáně IL-6 a MCP-1 ve VAT, ale i vyšší expresi TNF- α v PVAT, která byla doposud v literatuře opomíjena. U SAT nebyl rozdíl v expresi zaznamenán.

Při studiu vlivu tukové tkáně na adhezivitu monocytů k endotelu byl použit model s fluorescenčně značenými THP-1 monocyty. Stimulace endotelu pomocí kondicionovaného media z tukové tkáně (ATCM) pak vedla k významně vyšší adhezi monocytů ve srovnání s kontrolními endotelovými buňkami bez stimulace. Autorka dále přehledně dokládá korelaci mezi koncentrací IL-1 β , TNF- α , MCP-1, RANTES a překvapivě i protizánětlivého IL-10 s procentem adheze monocytů. Překvapivá je korelace s protizánětlivým IL-10, což je dále rozebíráno v diskuzi. Významný vliv zejména IL-1 β , TNF- α na adhezivitu monocytů je pak dále doložen experimenty se selektivní inhibicí vybraných cytokinů. Následně byla studována genová exprese genů vlastních cytoadhezivních molekul a dalších cytokinů ve stimulovaných endoteliích prostřednictvím ATCM z VAT. Signifikantně vyšších hodnot bylo dosaženo u VCAM-1 a ICAM-1, zatímco u SelE k navýšení nedošlo. Přesto autorka překvapivě uvádí, že pouze relativní exprese SelE významně korelovala s mírou adheze monocytů. Na obr. 9 je také uvedena i exprese endotelové NOS (NOS3). Tento výsledek však není v textu zmíněn. Srovnání koncentrací jednotlivých cytokinů v AVTCM a SVFCM (stromovaskulární frakce bez adipocytů) ukazuje, že zdrojem IL-1 β , a TNF- α jsou primárně makrofágy, zatímco IL-6, IL-10, MCP-1 a RANTES jsou produkovány více v adipocytech.

V části věnované vztahu významného metabolického rizikového faktoru non-HDL cholesterolu k makrofágovým fenotypům v tukové tkáni byla u zdravých dárčů ledviny prokázána pozitivní korelace non-HDL cholesterolu

s množstvím prozánětlivě polarizovaných makrofágů (CD14+CD16+) i v podtypu fagocytujících makrofágů (CD14+CD16+CD36^{high}), a to jak ve VAT, tak i v SAT. Významným nálezem je skutečnost, že tato korelace přetrvává i u nízkých koncentrací non-HDL cholesterolu < 4,0 mmol/l.

Předkládaná dizertační práce je psaná věcně a výstižně. V teoretickém úvodu autorka ukázala, že široce ovládá danou problematiku. Experimentální část má logické členění. Cíle práce jsou předem jasně vytyčené, metodika byla správně zvolená, výsledky jsou dobře prezentovány v textu, tabulky a grafy jsou přehledné, získané výsledky jsou dostatečně rozpracovány v diskuzi. Počet citací je vyčerpávající a jsou uváděny dle standardních pravidel. V seznamu publikací jsou 4 práce uveřejněné v mezinárodních vědeckých časopisech s IF, z čehož ve 2 případech jde o první autorství.

K uvedené práci bych měl tyto dotazy:

1. Korelace non-HDL cholesterolu s polarizací makrofágů do prozánětlivého fenotypu byla prokázána jak ve VAT, tak i v SAT. Ve studii genové exprese zánětlivých cytokinů u pacientů s PVD ve srovnání se zdravými dárci ledviny však rozdíly v případech SAT zaznamenány nebyly. Jaký je podle autorky na základě dosažených výsledků i literárních údajů vztah mezi SAT a kardiovaskulárním rizikem?
2. V části věnované genové expresi adhezivních molekul došlo ve srovnání s kontrolními buňkami po stimulaci ATCM k významnějšímu zvýšení ICAM-1 ($p < 0,001$) než u VCAM-1 ($p < 0,01$). Při porovnání krajních kvartilů podle míry adheze však vyšel významný rozdíl pouze u VCAM-1 ($p = 0,011$). V textu je uvedeno, že pouze genová exprese SelE pozitivně korelovala s mírou adheze monocytů, avšak při porovnání krajních kvartilů adhezivity je tento rozdíl nesignifikantní ($p = 0,088$). Jaká z uvedených cytoadhezivních molekul může být podle autorčina názoru nejvíce zodpovědná za zvýšenou adhezivitu monocytů po stimulaci ATCM?

Závěr: Mgr. Soňa Kauerová dosáhla v rámci svého doktorandského studia významných výsledků. Prokázala, že je schopná samostatné vědecké práce a doporučuji proto udělení titulu Ph.D.

V Praze, dne 2.9.2019

doc. MUDr. Pavel Kraml, Ph.D.

2.interní klinika 3. LFUK a FN Král. Vinohrady, Praha