

# POSTEROVÁ SEKCE

## Opakované „vyvanutí“ efektu hypolipidemické léčby

Adámková V

Pracoviště preventivní kardiologie IKEM, Praha

**Úvod:** Poruchy metabolismu tuků jsou v naší zemi časté a s léčbou běžných forem se setkávají prakticky všechny ordinace praktických lékařů, internistů, kardiologů i endokrinologů. Závažné formy dyslipidemií se léčí PCSK9i (inhibitory proproteinových konvertáz subtilizin/kexinového typu – alirokumab a evolokumab), eventuálně inkisiranem (siRNA), využívá se mechanismu RNAi, aby se zabránilo syntéze PCSK9 v játrech. Oba PCSK9i prokázaly svoji účinnost v klinických studiích, v nichž léčba evolokumabem spolu se statiny vedla ke snížení LDL-C o dalších až 75 % ve srovnání s léčbou statiny samotnými, a léčba alirokumabem spolu se statiny vedla ke snížení LDL-C o dalších až 58 % ve srovnání s léčbou statiny samotnými. Vedlejším účinem je možná alergie na preparát. **Metodika a výsledky:** Žena 65 let, BMI 25,1 kg/m<sup>2</sup>, rodinní příslušníci měli všichni vyšší hladinu lipidů. V roce 2015 pacientka prodělala tranzitorní ischemickou ataku, reparační úplná, od 2015 podávány statiny (simvastatin, atorvastatin, rosuvastatin) – všechny s vedlejšími účinky, velkými bolestmi kloubů, svalů, elevací kreatininkinázy. Pro vyšší hladinu triacylglycerolů byl podáván fibrát, ale ten s omezenou snášenlivostí, po ezetimibu se projevil mdloby (potvrzeny lékařem) a hypotenze (i dle monitorace TK). V roce 2023 byla odeslána k posouzení další léčby. **Vstupní hodnoty:** T-C 6,0; LDL-C 3,6; TG 2,16 (mmol/l). Zavedena léčba alirokumabem 150/2krát týdně. Kontrolně T-C 2,8; LDL-C 0,7; TG 1,4, (mmol/l). **Kontrola 3/2024:** T-C 5,8 mmol/l; LDL-C nehodnotitelné, tyto hodnoty byly naměřeny opakovaně, proto byla převedena na evolokumab 140 mg/2krát týdně, kontrolně byly opakovaně naměřeny hodnoty T-C 6,0–6,2 mmol/l; LDL-C nehodnotitelné. Po dohodě přerušena léčba PCSK9i, po dohodě byl nasazen inkisiran, kontrolně po 3 měsících T-C 3,0; LDL-C 0,9 (mmol/l), ale i zde udáván vedlejší účinek – velká bolest okolo pupku, slabost, biochemie u praktického lékaře v pořádku. **USG karotid:** Bilaterálně semicirkulární aterosklerotický plát v karotické bifurkaci s přesahem do ACI, hemodynamicky nevýznamný. Ortohrádní toky v bilaterálně zobrazitých vertebrálních tepnách. **Závěr:** Pacientka v sekundární prevenci (po TIA), s významnou dyslipidemií, s nesnášenlivostí statinů, ale i ezetimibu a fibrátů, byla převedena na léčbu PCSK9i, efekt vyvanul u obou preparátů, proto byl indikován inkisiran, kontrolní biochemické parametry zatím v cílových hodnotách.

IKEM

## Effects of IL-13 on expression of endoglin and adhesion molecules in aortic endothelial cells

Diepoltová A, Tripská K, Vašinová M, Fikrová P, Nachtigal P

Department of Biological and Medical Sciences, Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic

**Introduction:** Endoglin (ENG) is a co-receptor of the Transforming Growth Factor family and it has been implicated in endothelial dysfunction contributing to vascular pathology. Interleukin-13 (IL-13) is a cytokine known to regulate immune responses, but its impact on endothelial function remains incompletely understood. The aim of this study was to investigate the effects of IL-13 on the expression of ENG and adhesion molecules VCAM-1 and ICAM-1, in human aortic endothelial cells (HAECs). **Methods:** HAECs (passage 5) were treated with IL-13 at concentrations of 1 and 3 ng/mL for 24 h. Protein expression of ENG, VCAM-1, and ICAM-1, as well as monocyte adhesion, was analyzed by flow cytometry. mRNA expression of ENG and related genes was assessed by qRT-PCR. **Results:** At the transcriptional level, IL-13 treatment resulted in decreased mRNA expression of ENG due to the downregulation of transcription factors KLF6, RELA, and SP1. In contrast, mRNA expression of adhesion molecules VCAM-1, SELE, and SELP was significantly increased. These results were translated into protein expression, where treatment with IL-13 led to a significant reduction of ENG and a significant upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 protein expression. Furthermore, IL-13 exposure increased the adhesion of THP-1 monocytes to HAECs, suggesting that adhesion molecules, but not ENG, are essential for the functional changes under these condi-

tions. **Conclusion:** IL-13 modulates endothelial activation by downregulating ENG expression and increasing VCAM-1 and ICAM-1 expression, accompanied by increased monocyte adhesion. These findings suggest a potential role of IL-13 in promoting endothelial dysfunction through altered expression of ENG and adhesion molecules in HAECS.

*This research was supported by the project „New Technologies for Translational Research in Pharmaceutical Sciences” / NETPHARM, project ID CZ.02.01.01/00/22\_008/ 0004607 (co-funded by the European Union) and Specific University Research [SVV 260 549].*

## Identification and confirmation of circulating microRNAs levels in patients with and without familial hypercholesterolemia treated with PCSK9 inhibitor through high-depth small RNA sequencing

Dlouhá D<sup>1</sup>, Janoušková K<sup>1</sup>, Benešová Š<sup>1</sup>, Horáčková J<sup>2</sup>, Hubáček JA<sup>1</sup>, Blaha V<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Center for Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>4<sup>th</sup> Department of Internal Medicine – Hematology, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Charles University and University Hospital Hradec Králové, Czech Republic

**Background:** Hypercholesterolemia is characterized by elevated levels of low-density lipoprotein (LDL) cholesterol in the serum, which can lead to accelerated atherosclerotic cardiovascular diseases. Small RNAs, particularly microRNAs, function as post-transcriptional regulators of gene expression. Our study aimed to determine the differing effects of treatment with PCSK9 inhibitors (PCSK9i) on microRNA sequencing profiles in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia (HeFH) compared to those without HeFH. **Methods:** Plasma was collected before the start of PCSK9i treatment, and then at 3rd, 6th and 12th month of treatment. Small RNASeq was performed using NextSeq 500/550 in 30 patients (age  $62 \pm 9.6$  years; women 33.3 %; 8 heterozygous FH (HeFH)). Results were consequently validated using qPCR in 225 plasma samples, from 60 patients (age  $63 \pm 8.9$  years; 21 HeFH). **Results:** A total of 103 differentially expressed miRNAs (DE-miRNAs;  $P_{adj} < 0.05$ ) were identified between HeFH patients and non-FH patients across various follow-up time points (FUs). Among these, twenty-three DE-miRNAs that were detected in at least two FUs were subsequently validated. Factors such as the type and dosage of PCSK9 inhibitors, age, sex, and plasma storage time significantly influenced the levels of miRNAs. In the univariate analysis, miR-144, miR-181a, miR-22, miR-3615, miR-505, miR-99b, and let-7d exhibited nominally significant differences at one or more time points prior to multiple testing corrections. However, after corrections, no comparisons remained statistically significant. **Conclusions:** FH genotype as well as PCSK9i treatment probably could influence circulating miRNAs levels.

*Supported by the Ministry of Health of the Czech Republic in cooperation with the Czech Health Research Council under project No. NU22-01-00151. All rights reserved.*

## Divergent effects of endoglin inhibition on human hepatic stellate cells activation

Fikrová P, Tripská K, Němečková I, Nachtigal P

Department of Biological and Medical Sciences, Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic

**Introduction:** Hepatic fibrosis is a dynamic process characterized by the activation of hepatic stellate cells (HSCs) into proliferative myofibroblasts. Endoglin (ENG), a co-receptor of TGF, is highly expressed in HSCs, and its expression is markedly increased during fibrosis; however, its precise role in this process remains unclear. The aim of this study was to compare the effects of a monoclonal anti-endoglin antibody (TRC105) treatment that modulated ENG signaling with genetic silencing of ENG on the TGF-induced profibrotic activation of human HSCs. **Methods:** Primary human HSCs were cultured until reaching 90 % confluency and then pretreated either with TRC105 (300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 4 hours) or subjected to ENG silencing using ENG-specific siRNA (20 nM, 48 hours). Subsequently, HSCs were stimulated with TGF (5 ng/ml) for 24 hours to induce fibrotic activation. Selected markers of hepatic fibrosis and its signaling pathways, including collagen I, SMA, MMP-14, desmin, pSMAD2/3, pSMAD1/5, as

well as ENG and its soluble form, were analyzed using RT-PCR, flow cytometry, immunocytochemistry, and ELISA. **Results:** TGF stimulation significantly increased the expression of fibrosis-related markers at both the mRNA and protein levels, including ENG and its soluble form. Pretreatment with TRC105 significantly prevented the increase of TGF-induced ENG, collagen I, SMA, and MMP-14 expression, and attenuated pSmad2/3 activation, while leaving pSmad1/5 unaffected. Immunocytochemistry further confirmed decreased SMA, desmin, and MMP-14 staining in TRC105-treated cells. In contrast, ENG silencing did not exert antifibrotic effects; profibrotic markers such as collagen I and SMA were even upregulated at the mRNA level. Moreover, ENG silencing had an opposite effect on SMAD signaling, as it attenuated pSmad1/5 activation while leaving pSmad2/3 unaffected. This suggests divergent modulation of TGF signaling by pharmacological inhibition versus genetic silencing of ENG. **Conclusion:** Our data suggest that pharmacological inhibition of endoglin by TRC105 exerts antifibrotic effects in HSCs, whereas genetic silencing of ENG does not reproduce these effects and may even exacerbate fibrosis. These divergent outcomes highlight the complexity of endoglin's role in liver fibrosis and support TRC105 as a promising therapeutic strategy.

The study was supported by GACR 22-14961S.

## Na pohlaví záleží! Vztah mezi cholesterolem a celkovou a kardiovaskulární mortalitou v české populaci

Hubáček JA<sup>1,2</sup>, Dušek L<sup>3</sup>, Adámková V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha

<sup>2</sup>III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>3</sup>Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Praha

**Úvod:** Vysoká hladina cholesterolu je považována za jednu z pěti kauzálních příčin KVO. Většina studií se ale primárně zaměřuje na vztah k nefatálním KV-příhodám a nerozlišuje v analýzách mezi muži a ženami. Zaměřili jsme se proto na analýzu celkové a KV-úmrtnosti ve vztahu k hladinám celkového (T-C) a LDL-cholesterolu (LDL-C) u jedinců z české studie post-MONICA. **Metodika:** Analyzovali jsme vztah mezi hladinami cholesterolu a úmrtností u žen a mužů ze studie post-MONICA. Mortalitní data byla dostupná po 25 letech sledování a byla porovnávána v kvartilech hodnot T-C měřených v letech 1997/8 a 2000/2001. **Výsledky:** Do studie bylo zahrnuto celkem 1 298 žen a 778 mužů. Z celkové mortality byly vyřazeny násilné příčiny úmrtí a úmrtí na COVID-19. Celková mortalita byla 30,6 % u mužů a 17,8 % u žen, KV-mortalita pak 9,8 % u mužů a 5,6 % u žen. Kvartily byly vytvořeny tak, aby v každém byl stejný počet jedinců. U mužů se ani celková ( $P = 0,41$ ), ani KV-mortalita ( $P = 0,48$ ) nelišila v jednotlivých kvartilech cholesterolu (tab). Naopak u žen jsme našli kontinuální nárůst jak celkové ( $P < 0,00001$ ), tak KV-mortality ( $P < 0,01$ ) od kvartilu s nejnižší ke kvartilu s nejvyšší hladinou cholesterolu (tab) a rozdíl v celkové mortalitě zůstal významný i po adjustaci na věk, BMI a kuřácký status. Analýza LDL-C přinesla podobné výsledky. **Závěr:** Výsledky ukazují na významný rozdíl ve vztahu hladin cholesterolu k celkové a KV-mortalitě mezi pohlavími. Zatímco u mužů je vztah (pokud vůbec) zcela marginální, u žen je vysoká hladina cholesterolu zásadním rizikovým faktorem. Riziko spojené s vysokou hladinou cholesterolu tedy buď neplatí u mužů, nebo jsou tito léčeni výrazně lépe/efektivněji než ženy.

Tab. | Mortalita u mužů a žen v závislosti na hladinách T-C

muži	Q1	Q2	Q3	Q4
T-C (mmol/l)	4,5 ± 0,5	5,4 ± 0,2	6,1 ± 0,3	7,1 ± 0,7
celkova mortalita (%)	25,8	31,6	31,6	33,2
KV-mortalita (%)	10,0	9,8	7,2	12,3
ženy				
T-C (mmol/l)	4,4 ± 0,4	5,4 ± 0,2	6,1 ± 0,2	7,3 ± 0,7
celkova mortalita (%)	8,3	15,1	22,3	25,0
KV-mortalita (%)	2,5	4,9	7,2	7,5

Podpořeno MZ ČR – RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“)

## Genetické varianty zvyšující riziko DM2T nejsou prediktorem celkové a kardiovaskulární mortality

Hubáček JA<sup>1,2</sup>, Dušek L<sup>3</sup>, Adámková V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha

<sup>2</sup>III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>3</sup>Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Praha

**Úvod:** Bylo mnohokrát prokázáno, že jedinci s diabetem vykazují vyšší mortalitu oproti nediabetikům a umírají primárně na KV-komplikace. Diabetes mellitus je odhadem ze 40–50 % determinován geneticky. Varianty spojené s vyšším rizikem diabetu by tak měly být spojeny i s vyšší celkovou/kardiovaskulární mortalitou. **Metodika:** Varianty v sedmi genech (*FTO*, *TCF7L2*, *IGF2BP2*, *THADA*, *ARAP1*, *KCNQ1* a *MTNR1B*) spojených s rizikem diabetu v české populaci byly analyzovány v populační studii post-MONICA (N = 2 458 jedinců, v době zařazení do studie ve věku 26–65 let; 53 % žen), v níž byla sledována mortalita po dobu 25 let. Z celkové mortality byly vyřazeny násilné příčiny úmrtí a úmrtí na COVID-19. **Cíl:** Analyzovat individuální SNPs a genetické rizikové skóre konstruované z variant genů asociovaných v předchozích studiích s rizikem DM2T jako potenciální rizikový faktor celkové a KV-mortality. **Výsledky:** Celková mortalita po 25 letech sledování byla 17 % u žen a 32 % u mužů, KV-mortalita 9,8 % u mužů a 5,6 % u žen. U diabetiků byla mortalita signifikantně vyšší než u nediabetiků (P < 0,000001; OR = 3,27; 95% CI 2,56–4,18). Individuální genetické polymorfizmy nebyly spojeny ani s celkovou, ani s KV-mortalitou, a to ani pokud byli muži a ženy analyzováni zvlášť (všechny P > 0,35). Podobně ani jedinci s vyššími hodnotami (6 a více rizikových alel) genetického rizikového skóre (spojeného s dvojnásobným rizikem DM2T) nevykazují vyšší riziko celkové nebo KV-mortality. **Závěr:** Rizikové alely spojené s DM2T nejsou spojeny s vyšší mortalitou v české populaci. Je možné, že s vyšší mortalitou je spojen DM2T tehdy, pokud je vyvolán primárně nezdravým životním stylem a genetické predispozice zde hrají menší roli.

Podpořeno projektem Národní institut pro výzkum metabolických a kardiovaskulárních onemocnění (Program EXCELES, ID: LX22NPO5104) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

## Vliv statinů na plazmatické koncentrace nukleových kyselin po fyzické aktivitě

Janoušková K<sup>1</sup>, Hubáček JA<sup>1,2</sup>, Šatný M<sup>2</sup>, Dlouhá D<sup>1</sup>, Jandusová (Todorovová) V<sup>2</sup>, Vrablík M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha

<sup>2</sup>III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod:** Plazmatické volné DNA (cfDNA; jaderné – n; mitochondriální – mt) a miRNA by mohly být markery poškození svalů způsobeného statiny, a to zejména při interakci s fyzickou aktivitou. **Metodika:** Devět subjektů indikovaných k léčbě statiny (20 mg rosuvastatinu) podstoupilo 6minutový test chůze a ergometrii. Byly analyzovány plazmatické koncentrace cfDNA, cfmtDNA a dvou svalově specifických miRNA (133a-3p a 1-3p) před a po fyzickém testu, a to vždy jak před zahájením léčby statiny, tak po jednom měsíci jejího trvání. **Výsledky:** Koncentrace cfDNA vykazovaly významnou korelaci s AST, kreatinínázou a překvapivě také s nonHDL-C ve vzorcích odebraných v klidu a před léčbou (všechna P < 0,02). Hladiny cfmtDNA vykazovaly významnou korelaci s kreatininem po fyzické aktivitě během léčby statiny (P < 0,05), ale nikoli ve vzorcích před léčbou. 6minutový test chůze nepředstavoval dostatečnou zátěž, aby změnil plazmatické koncentrace nukleových kyselin. Po ergometrii se koncentrace cfDNA zdvojnásobily (hodnoty P mezi 0,02 a 0,001), ale jejich nárůst byl přibližně stejný při testu provedeném během léčby statiny i bez ní. Naopak plazmatické koncentrace cfmtDNA nenásledovaly své jaderné protějšky, protože po fyzické aktivitě poklesly o cca 50 %, přičemž statiny tento pokles mírně inhibovaly (P = 0,07). V žádné fázi protokolu nebyly zaznamenány významné rozdíly v koncentracích analyzovaných miRNA. **Závěr:** U nových uživatelů statinů nedochází k významným změnám v koncentraci cfDNA a miRNA. Statiny mají zřejmě potenciál inhibovat pokles cfmtDNA vyvolaný fyzickou aktivitou.

Podpořeno MZ ČR – RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“) a Ministerstvem zdravotnictví ČR ve spolupráci s Agenturou pro zdravotnický výzkum ČR v rámci projektu č. NU21-01-00146. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

## Differences in the effect of liraglutide on metabolic disorders associated with prediabetes by sex and reproductive age

Lebertová L, Marková I, Hüttl M, Malínská H, Černá K

Centre for Experimental Medicine, IKEM, Prague

**Introduction:** Biological differences between the sexes, including postmenopausal women, may influence the pathophysiology of certain metabolic disorders as well as the mechanism of action of drugs. The antidiabetic and anti-obesity drug liraglutide may have positive effects on some metabolic disorders associated with prediabetes, regardless of its antidiabetic effects. The study aimed to investigate and compare the effects of liraglutide administration in a prediabetic model on metabolic disorders associated with prediabetes depending on the sex and reproductive age of female. **Methods:** Seven-month-old male, female and ovariectomized (OVX) female hereditary hypertriglyceridemic (HHTg) rats, with insulin resistance, impaired glucose tolerance, dyslipidaemia and fatty liver were used in this study. Liraglutide was administered subcutaneously (0.1 mg/kg/day for 8 weeks) and the markers of lipid metabolism, insulin sensitivity and inflammation were investigated. **Results:** HHTg males, females and OVX females had a significant reduction in body weight and visceral adiposity ( $p < 0.001$ ) after liraglutide treatment, even though the strain was non-obese. Liraglutide administration significantly reduced serum levels of leptin ( $p < 0.001$ ), triacylglycerols (TAG) (males:  $p < 0.05$ ; females:  $p < 0.001$ ; OVX females:  $p < 0.001$ ) and NEFA (males:  $p < 0.05$ ; females:  $p < 0.01$ ; OVX females:  $p < 0.05$ ). TAG accumulation in the liver was significantly reduced in females ( $p < 0.001$ ) and in OVX females ( $p < 0.001$ ), whereas no reduction was observed in males. Females of reproductive age showed significantly greater reduction in ectopic TAG deposition in myocardium ( $p < 0.05$ ) and skeletal muscle ( $p < 0.01$ ). The most significant improvement in insulin sensitivity, in skeletal muscle and in visceral adipose tissue, after liraglutide treatment was observed in females of reproductive age. **Conclusion:** In a prediabetic model, liraglutide treatment improved glucose tolerance and significantly reduced visceral adiposity and circulating lipids independent of sex and reproductive age. On the other hand, prediabetic females had a more pronounced reduction in ectopic lipid accumulation, greater improvement in insulin sensitivity, and lipid metabolism compared to prediabetic males and females with induced menopause. Ours findings suggest that the response to the liraglutide treatment may vary by sex and reproductive age, emphasize the need for an individualized approach in people with prediabetes.

Supported by MH CZ grant No. NW25-01-00076 and by MH CZ - DRO grant (IKEM, IN 00023001)

## Vliv pohlaví na hematologické a metabolické parametry u prediabetického modelu se závažnou dyslipidemií

Marková I<sup>1</sup>, Hüttl M<sup>1</sup>, Černá K<sup>1</sup>, Kavanová M<sup>2</sup>, Malínská H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha

<sup>2</sup>Pracoviště laboratorních metod IKEM, Praha

**Úvod:** Kardiovaskulární onemocnění (KVO) patří mezi nejčastější komplikace diabetu. Inzulinová rezistence, dyslipidemie i dysfunkce tukové tkáně doprovázející prediabetes představují nezávislé KV-rizikové faktory, které se liší u mužů a žen. Prediabetes je také spojován s hemostatickou nerovnováhou a endotelovou dysfunkcí, které rovněž mohou přispívat k rozvoji diabetu a s ním souvisejících cévních komplikací. **Cílem** studie bylo sledovat vliv pohlaví na hematologické a zánětlivé parametry ve vztahu ke KVO spojeným s prediabetem. **Metodika:** Šestiměsíční samce a samice potkanů kmene Wistar-Kyoto (WKY) – kontrolní skupina – jsme porovnávali se stejně starými samci a samicemi potkanů kmene hereditárně hypertriglyceridického potkana (HHTg), prediabetickým modelem se závažnou dyslipidemií a inzulinovou rezistencí. Hematologické parametry byly analyzovány na Sysmex XN analyzátozech, diferenciální počet leukocytů byl měřen průtokovou cytometrií. Relativní mRNA exprese genů byla stanovená qPCR a zánětlivé parametry byly analyzovány ELISA kity. **Výsledky:** HHTg kmen se vyznačoval vyšším HOMA-IR, výraznou hypertriglyceridemií a zvýšenou ektopickou akumulací triglyceridů v játrech, která byla výraznější u HHTg samic, zatímco samci měli vyšší sytou glykemii. Oproti WKY-kontrolám měl kmen HHTg vyšší počet i objem trombocytů a nižší inhibiční aktivitu antitrombinu, hodnoty byly výraznější u samic HHTg. Hypertriglyceridemie u HHTg-kmene byla asociována s mírným chronickým zánětem charakterizovaným zvýšenými sérovými hladinami leptinu, IL6 a PAI-1, které se lišily mezi pohlavími a zvýšeným množstvím lymfocytů i vyšší expresí PAI-1 ve viscerální

tukové tkáni. **Závěr:** Závažná dyslipidemie a akumulace triglyceridů v játrech u prediabetického HHTg-kmene byla doprovázena mírným chronickým zánětem a prokoagulačním stavem. HHTg-samice vykazovaly mírnější zánětlivou reakci navzdory výraznější dyslipidemii i prokoagulačnímu stavu, což může přispívat ke snížení KV-poškození asociovaného s prediabetem.

Podpořeno grantem MZ ČR-RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“).

## Terapie statiny u HIV-pozitivních pacientů: představení projektu

Matějka J, Beňová Becherová J, Zlatohlávek L

Centrum preventivní kardiologie, III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod:** I když je Česká republika zemí s nízkým výskytem infekce HIV, je dle dostupných dat každoročně zachyceno 200–300 nových případů. Stále účinnější antiretrovirová (ARV) léčba prodloužila očekávanou délku života pacientů s HIV a jednou z nejčastějších příčin jejich morbidit i mortality jsou nyní onemocnění kardiovaskulární (KV) soustavy, jejichž výskyt je v této populaci dle některých publikací oproti běžné populaci více než 2násobný. Proto je mimo jiné nutná adekvátní terapie dyslipidemie, jejíž prevalence je u HIV-pozitivních taktéž vysoká. **Soubor:** Zařazeno bude 100 pacientů s HIV-infekcí se stabilní ARV léčbou po dobu minimálně 6 týdnů s diagnózou dyslipidemie. Vylučovacími kritérii jsou těžká jaterní či renální insuficience, těhotenství a kojení. **Metodika:** Jedná se o prospektivní kohortovou observační studii. Sledování bude probíhat 1 rok a obsáhne 4 kontroly. Laboratorně bude sledován lipidogram, glykemické parametry, jaterní a ledvinové funkce, iontogram, imunitní/zánětlivé markery (hsCRP, IL6) a parametry aktivity HIV-infekce. Zároveň bude zhodnocena farmakokinetika statinů. **Cíle:** (1) zhodnotit účinek statinové terapie na lipidový profil a markery imunitní aktivity u HIV-pozitivních pacientů s dyslipidemií (2) posoudit jejich KV-riziko pomocí nástrojů SCORE2, dopplerovské USG karotid (DUSG), ev. myokardiální scintigrafie (3) sledování výskytu aterosklerotických kardiovaskulárních příhod (ASKVO) (4) zhodnotit farmakokinetiku statinů (zejména atorvastatinu a rosuvastatinu) v kontextu různých režimů ARV-léčby (5) identifikovat klinicky významné lékové interakce mezi statiny a ARV-terapií s využitím nástrojů, jako je databáze Liverpool HIV Drug Interactions (6) porovnat klinický vývoj u pacientů s nově zahájenou statinovou terapií a u pacientů, kteří statiny dlouhodobě užívají. **Závěr:** Výstupem této studie, na které spolupracuje HIV-centrum nemocnice Bulovka a Centrum preventivní kardiologie III. interní kliniky 1. LF UK, bude snaha o optimalizaci volby a dávkování statinové terapie u HIV-pozitivních pacientů. Dle farmakokinetiky jednotlivých statinů navrhneme preferovanou hypolipidemickou léčbu pro konkrétní ARV-režimy. Bude zhodnocena bezpečnost terapie statiny z hlediska míry aktivity HIV-infekce napříč různými ARV-režimy. Přiblížena bude i problematika reziduálního KV-rizika spojeného s Lp(a).

## Časná deplece draslíku v kůži předchází akumulaci sodíku a přispívá k rozvoji citlivosti k soli u primárního hyperaldosteronizmu

Mlejnek P<sup>1</sup>, Liška F<sup>2</sup>, Šilhavý J<sup>1</sup>, Šimáková M<sup>1</sup>, Pravenec M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fyziologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha

<sup>2</sup>Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod:** Primární hyperaldosteronismus představuje nejčastější formu sekundární hypertenze spojené s citlivostí k soli. Alterace v metabolismu sodíku a draslíku mohou hrát klíčovou úlohu v jejím rozvoji. Cílem studie bylo zjistit, zda aldosteron-dependentní změny koncentrací těchto elektrolytů v plazmě a tkáních nastávají před rozvojem solně senzitivní hypertenze, nebo až následně. **Metody:** Samci potkanů kmene Sprague-Dawley po jednostranné nefrektomii byli vystaveni kontinuální infuzi aldosteronu nebo vehikula a krmeni dietou s vysokým obsahem soli. Koncentrace elektrolytů v plazmě, kůži a korpusu byly stanoveny po 2 a 14 dnech pomocí atomové absorpční spektroskopie. **Výsledky:** Již po 2 dnech diety s vysokým obsahem soli, tedy před zvýšením cévní rezistence a krevního tlaku, vykazovali potkani s infuzí aldosteronu nižší koncentrace draslíku v plazmě a kůži oproti kontrolám, bez významných změn v koncentracích sodíku. Po 14 dnech, kdy se již rozvinula solně senzitivní hypertenze, přetrvával pokles draslíku v plazmě, zatímco v kůži rozdíl vymizely. Naopak koncentrace sodíku v těle byly v této fázi u aldosteronové skupiny významně vyšší. **Závěr:** Časná deplece draslíku v plazmě

a kůži předchází akumulaci sodíku a vzestupu krevního tlaku u modelu primárního hyperaldosteronizmu. Tyto výsledky naznačují, že právě časná ztráta draslíku může být spouštěcím mechanismem pro zvýšení cévní rezistence a rozvoj citlivosti soli a hypertenze.

## Targeting Human Endoglin Suppresses Hepatic Inflammation and Fibrosis in Humanized Mouse Model of MASH

Mohammadi SN<sup>1</sup>, Igreja e Sá IC<sup>1,6</sup>, Manna D<sup>2</sup>, Pericacho M<sup>4</sup>, Maseko TE<sup>3</sup>, Kučera O<sup>3</sup>, Mičuda S<sup>5</sup>, Nachtigal P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological and Medical Sciences, Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of pharmacology, Faculty of medicine, Charles university in Hradec Králové, Czech Republic

<sup>3</sup>Department of Physiology, Faculty of medicine, Charles university in Hradec Králové, Czech Republic

<sup>4</sup>Renal and Cardiovascular Research Unit, Department of Physiology and Pharmacology, Biomedical Research Institute of Salamanca (IBSAL), University of Salamanca, Spain

<sup>5</sup>Department of pharmacology, Faculty of medicine, Charles university in Hradec Králové, Czech Republic

<sup>6</sup>Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic

**Introduction:** Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH), formerly nonalcoholic steatohepatitis (NASH), is a major contributor to liver-related morbidity and a risk factor for cardiovascular disease. Endoglin (ENG), a transmembrane glycoprotein and coreceptor of the transforming growth factor (TGF) superfamily, is dysregulated in liver disorders and promotes hepatic inflammation and fibrosis. TRC105 (Carotuximab), a monoclonal antibody targeting ENG, inhibits ENG-mediated signaling and may represent a novel therapeutic approach to prevent MASH progression. In this study, we hypothesized that TRC105, a monoclonal antibody against ENG, can prevent the progression of MASH by blocking inflammation or fibrosis. **Material and Methods:** 10-week-old L-ENG mice on a CBA × C57BL/6J background and wild-type littermates were fed either a standard chow diet or a choline-deficient, L-amino acid-defined high-fat diet (CDAA-HFD) for 8 weeks. TRC105 was administered intraperitoneally (i.p.) at 15 mg/kg twice weekly to designated treatment groups. Plasma biochemical parameters and liver enzymes were measured. Liver tissues were analyzed histologically, for protein expression (western blot), and gene expression (qRT-PCR) of mouse and human inflammatory and fibrotic markers. **Results:** Diet-induced MASH was confirmed by elevated liver enzymes (AST, ALT, ALP) and an increased liver-to-body weight ratio. Protein expression of inflammatory and fibrotic markers, including – SMA, ICAM, VCAM, and Mac2, was markedly upregulated, while gene expression of collagen, TIMPs, TGF-, and other mediators was also elevated. Histology confirmed steatosis and fibrosis development. TRC105 treatment significantly prevented increase in Mac2 protein expression, confirming decreased activated macrophages. Furthermore, TRC105 suppressed TGF-, and its signaling pathway PAI-1 gene expression, indicating attenuation of TGF--mediated fibrogenesis. These findings demonstrate that ENG blockade attenuates inflammation and fibrosis in CDAA-HFD-induced MASH in transgenic mice overexpressing ENG. **Conclusion:** Here we demonstrate for the first time in vivo, TRC105 reduces macrophage activation (and inflammatory infiltrates by suppressing Mac2), while disrupting ENG-mediated TGF- signaling and downstream PAI1 induction, thereby limiting fibrotic progression during MASH development. ENG is thus a key regulator of MASH pathogenesis, and TRC105 represents a potential therapeutic strategy.

Supported by Charles University Grant Agency (GAUK)-216723.

## Bridging Immunity and Metabolism: Lesson from Humanized Mouse Models

Muffová B<sup>1,2</sup>, Moregola A<sup>3</sup>, Bonacina F<sup>3</sup>, Norata GD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Atherosclerosis Research Laboratory, IKEM, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Physiology, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic

<sup>3</sup>Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan, Italy

**Background & Aims:** Metabolic diseases such as obesity and atherosclerosis are increasingly recognized as disorders shaped not only by nutrition and genetics but also by the immune system. Immune cells interact closely with adipose tissue

and other metabolic organs, influencing disease onset and progression. To translate basic research to human pathology understanding, new human-relevant experimental models are required. Here, we introduce a novel immunodeficient mouse model humanized with human hematopoietic cells, established on backgrounds of obesity or atherosclerosis. Focusing on adipose tissue, we assessed the impact of human CD34 cells on immune cell distribution, adipose tissue (AT) characteristics, and metabolic outcomes. **Materials and Methods:** Obesity model: Rag2//IL2rg//CD47/ (TKO) mice engrafted with hCD34+ were fed a 45 % kcal high-fat diet (HFD). Atherosclerosis model: TKO mice crossed with LDLr/ (TKO-L) and engrafted with hCD34+, fed a Western-type diet (WTD). To assess diseases development in our model, we evaluated immune cells distribution in target tissues, plasma lipid levels, AT morphology (adipocyte area), gene expression of selected metabolic and immune markers, and metabolic parameters (glucose metabolism, metabolic cages; obesity model only). **Results:** Human CD34 cells engrafted successfully in different metabolic tissues. Their presence was associated with changes in AT morphology, including reduced adipocyte size (visceral AT: TKO-L  $p < 0.05$ , TKO  $p = 0.08$ ; subcutaneous AT: TKO  $p < 0.0001$ ). Expression of metabolic and immune-related genes was largely altered in humanized mice AT depots in both models. In the obesity model, humanization also influenced metabolic parameters, whereas plasma lipid levels remained largely unchanged in both. **Conclusion:** The findings demonstrate that human hematopoietic cells can modulate adipose tissue and metabolic features in humanized mice, highlighting the utility of these models for studying immune-metabolic interactions in obesity, atherosclerosis, and related metabolic diseases.

PRIN 2022 7KTSAT

## Endoglin overexpression improves vascular reactivity in transgenic mice: a pilot study

Němečková I, Mohammadi S, Igreja e Sa IC, Nachtigal P

Department of Biological and Medical Sciences, Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic

Endoglin (CD105) is an endothelial transmembrane glycoprotein that acts as a co-receptor for transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and plays a central role in the regulation of vascular homeostasis. Experimental studies have demonstrated that reduced endoglin expression impairs endothelial nitric oxide synthase (eNOS) activity, leading to decreased vasodilatory capacity, suggesting that proper Eng expression is crucial for preventing the development of endothelial dysfunction. The aim of our study was to investigate whether endoglin overexpression in the aorta is able to maintain the vascular function in a transgenic mouse model during a high-fat diet. Female transgenic mice expressing human endoglin (ENG+) and their wild-type littermates (wt) were used. Mice were fed either chow or a high-fat diet with 1 % cholesterol (HFD) for 25 weeks. Functional analysis of the aorta with preserved perivascular adipose tissue (PVAT) was performed using the wire myography. Our results demonstrated that the endothelium-dependent relaxation to acetylcholine in PGF2 pre-contracted aortas was impaired in wild-type mice, whereas ENG+ transgenic mice displayed preserved relaxation under both chow and high-fat diet conditions. Endothelium-independent relaxation to sodium nitroprusside was preserved in all groups. The effect of the NOS inhibitor L-NAME on PGF2-induced constriction and acetylcholine-induced relaxation was also similar in all experimental groups. In conclusion, our pilot study shows that overexpression of membrane-bound endoglin preserves endothelial-dependent vasorelaxation in the aorta, even under metabolic stress induced by a high-fat diet. These findings suggest a potential protective role of membrane-bound endoglin in maintaining vascular reactivity and its importance as a regulator of endothelial function, with potential implications for preventing vascular dysfunction.

*This research was supported by grants from the Czech Science Foundation [GACR No. 22-14961S], Specific University Research [SVV 260 663], and the project New Technologies for Translational Research in Pharmaceutical Sciences /NETPHARM, project ID CZ.02.01.01/00/22\_008/0004607, is co-funded by the European Union.*

## Výskyt a kompenzace dyslipidemie v kohortě pacientů s arteriální hypertenzí: studie PRESS-FREE

Olišr J<sup>1,5</sup>, Kociánová E<sup>1,5</sup>, Sovová E<sup>2</sup>, Jelínek L<sup>2</sup>, Hubáčková L<sup>3</sup>, Kohutová M<sup>4</sup>, Bulava A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I. interní klinika – kardiologická LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Klinika tělovýchovného lékařství a kardiovaskulární rehabilitace LF UP a FN Olomouc

<sup>3</sup>Oddělení klinické psychologie FN Olomouc

<sup>4</sup>Oddělení léčebné výživy FN Olomouc

<sup>5</sup>Centrum zdraví a prevence FN Olomouc

**Úvod:** Arteriální hypertenze společně s dyslipidemií představují jedny z nejdůležitějších ovlivnitelných rizikových faktorů rozvoje kardiovaskulárních onemocnění (KVO), zejména těch na podkladě aterosklerózy (ASKVO). Prevalence obou těchto jednotek je v populaci značná, navíc však často souběžná, což riziko rozvoje ASKVO násobně zvyšuje. **Cíl:** Cílem observační studie bylo v kohortě pacientů s diagnostikovanou arteriální hypertenzí, podstupujících nemocniční preventivní program, tedy dobrovolníků již dispenzarizovaných pro arteriální hypertenzi, identifikovat souběžný výskyt dyslipidemie a zhodnotit míru dosažení cílových hodnot LDL-C. **Metodika:** Program je určen pro pacienty od 18 do 60 let věku s arteriální hypertenzí a bez známého KVO či ASKVO. Do vstupního souboru bylo zařazeno 88 pacientů (n = 88), 49 žen a 39 mužů. Průměrný věk činil 46,6 let, průměrný BMI byl 30,99 kg/m<sup>2</sup>. Průměrný naměřený krevní tlak v ordinaci byl 133/81 mm Hg a 6 pacientů (6,8 %) bylo aktivními kuřáky. Na základě vstupního lipidogramu bylo pro účely studie u pacientů starších 40 let pomocí SCORE2 stanoveno individuální KV-riziko. **Výsledky:** Z analyzovaného počtu 67 pacientů (n = 67) bylo 17 pacientů zařazeno do kategorie vysokého KV-rizika, přičemž pouze 2 (11,7 %) z nich dosahovali cílové hladiny LDL-C < 1,8 mmol/l. 50 hypertonicům byla přiřazena kategorie nízkého středního KV-rizika, benevolentnější cíl < 3,0 mmol/l splňovalo 34 jedinců (68 %), přísnější < 2,6 mmol/l už jen 16 jedinců (32 %), při kterém se tedy celková prevalence zvýšeného LDL-C pohybovala na úrovni až kolem 76,1 % a úspěšnost léčby, resp. dosažení cílové hodnoty LDL-C, byla pouze 26,9 %. Ve vzorku bylo zároveň 10 pacientů (14,9 %) již užívajících hypolipidemickou léčbu (statin) v primární prevenci. **Závěr:** Výsledky potvrzují vysoký sdružený výskyt dyslipidemie a arteriální hypertenze. Zároveň však poukazují na rozdílnou míru úspěšnosti léčby dyslipidemie u níže středně rizikových pacientů dle stanovených cílových hladin LDL-C. To pouze zdůrazňuje důležitost využití modifikátorů rizika a následné provedení personalizovaného léčebného rozhodnutí, tak jak říkají doporučené postupy.

Grantová podpora: „Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892)“

## Mutace v genu APOB v české populaci a u pacientů s AKS

Ondráčková M<sup>1</sup>, Piňha J<sup>1</sup>, Adámková V<sup>1</sup>, Hubáček JA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha

**Úvod:** Apolipoprotein B (Apo B) je klíčovou strukturní bílkovinou LDL-částic a ligandem pro LDL-receptor. Mutace v genu APOB narušují schopnost proteinu vázat se na LDL-receptory a vedou k hromadění LDL-cholesterolu (LDL-C) v krvi (hypercholesterolemii), zvýšenému riziku aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění (KVO). V této práci jsme sledovali přítomnost mutace APOB Arg3527Gln/Trp v české kontrolní populaci a u pacientů s akutním koronárním syndromem (AKS). **Metodika:** Pomocí metody PCR-RFLP jsme analyzovali přítomnost mutace APOB (Arg3527Gln/Trp) u 5 962 jedinců ze studie post-MONICA (věk 49,2 ± 10,8 let; 47,5 % mužů), u 6 631 jedinců ze studie HAPIEE (věk 58,4 ± 7,1 let; 46,1 % mužů), a u 5 255 pacientů s AKS (věk 54,5 ± 8,0 let; 73 % mužů). Restrikční místo pro enzymy MspI a MluI v místě záměny bylo uměle vytvořeno pomocí modifikovaného primeru a pro screening byla využita analýza poolovaných PCR-produktů. **Výsledky:** V testovaném souboru jsme našli celkem 33 nositelů mutací v pozici AA 3527, z toho 21 u pacientů s AKS a 12 u kontrol. Mutace v APOB se vyskytovala signifikantně častěji u pacientů s AKS než v populaci (4,00 % vs 0,95 %; P = 0,0001; OR 4,21; 95%CI 2,07–8,56). **Závěr:** Mutace způsobující záměnu aminokyseliny v pozici 3527 v apolipoproteinu B se vyskytuje přibližně u 1 % české populace a je spojena s přibližně 4násobným rizikem AKS.

Podpořeno MZ ČR – RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“).

## PET assessment of carotid plaque features: histopathological correlation meta-analysis

Pakizer D<sup>1</sup>, Šalounová D<sup>2</sup>, Ambroz R<sup>3</sup>, Černá M<sup>3</sup>, Školoudík D<sup>2</sup>, Dunet V<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centre for Health Research, The Department of Imaging Methods, Faculty of Medicine, University of Ostrava, Czech Republic

<sup>2</sup>Centre for Health Research, Department of Clinical Neurosciences Faculty of Medicine, University of Ostrava, Czech Republic

<sup>3</sup>Secondary Medical School and Higher Vocational School of Health Care, Ostrava, Czech Republic

<sup>4</sup>Department of Neurology, Institute of Medical Radiology, Faculty of Biology and Medicine (School of Medicine), University of Lausanne and University Hospital of Lausanne, Switzerland

**Introduction:** Carotid atherosclerotic plaque composition, especially its unstable components such as inflammation and neovascularization, has been identified as a major risk factor for stroke compared with the severity of carotid stenosis. Positron emission tomography (PET) is an effective tool for detecting metabolic processes in plaque, and its accurate imaging may help prevent stroke. This study aimed to explore the potential of carotid plaque detection using PET and to assess its diagnostic accuracy in detecting specific features, particularly inflammation. **Methods:** After checking the prospective study registration in PROSPERO (ID CRD42232960), we searched Medline Ovid, Embase.com, Cochrane Library, and Web of Science for studies that used PET to detect extracranial carotid plaque characteristics and histopathological plaque assessment as a reference standard in symptomatic and asymptomatic patients. Studies investigating inflammation using 18F-fluoro-deoxy-glucose (18F-FDG) accumulation on PET and CD68 on histology were selected for meta-analysis. The QUADAS-2 tool was used to assess study quality, and a meta-analysis of correlation coefficients (Pearson's  $r$  and Spearman's  $r_s$ ) between PET and histology was used to analyze the data. **Results:** Of the 5 926 identified studies, 17 demonstrated the diagnostic accuracy of 18F-FDG PET in assessing inflammation, three in neovascularization, and a single study in calcification, plaque hemorrhage, and lipid core. 18F-FDG PET demonstrated a moderate correlation with histology in detecting neovascularization ( $r = 0.450-0.540$ ; 3 studies). 15 studies presented correlations between 18F-FDG PET and inflammation, and 12 met the inclusion criteria for the meta-analysis. 18F-FDG PET detection of inflammation showed a moderate correlation with histology using  $SUV_{max}$  ( $r = 0.496$ ; 95%CI 0.273-0.670; 4 studies),  $SUV$  ( $r_s = 0.578$ ; 95%CI 0.414-0.701; 3 studies), and a strong correlation with  $TBR_{max}$  ( $r = 0.722$ ; 95%CI 0.578-0.824; 6 studies) and  $TBR_{mean}$  ( $r_s = 0.692$ ; 95%CI 0.493-0.824; 4 studies). Heterogeneity was non-significant except for  $TBR_{mean}$ , but inconsistency was moderate to substantial in all meta-analyses ( $I^2 = 0.39-0.65$ ). **Conclusion:** The detection of carotid plaque inflammation using 18F-FDG PET showed a moderate to strong correlation with histology, which was higher when using TBR compared to SUV. More high-quality studies on other features, using histology as a reference standard and employing standardized methodology, are needed.

## Integrative metabolomic and genetic mapping for identification of genes regulating liver metabolism and blood pressure in the HXB/BXH RAT panel

Pravenec M<sup>1</sup>, Mlejnek P<sup>1</sup>, Šilhavý J<sup>1</sup>, Šimáková M<sup>1</sup>, Čajka T<sup>1</sup>, Williams R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Fyziology Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>The University of Tennessee Health Science Center, Memphis, U.S.A.

**Introduction:** The spontaneously hypertensive rat (SHR) exhibits several features of the metabolic syndrome. To enable genetic dissection of complex traits in the SHR, we developed a panel of recombinant inbred (RI) strains derived from SHR and Brown Norway progenitors, the HXB/BXH RI strains ( $N = 30$ ). **Methods:** We performed LC-MS-based metabolomic profiling of liver samples and conducted genetic analyses using GeneNetwork, an online database and software platform. **Results:** A total of 761 metabolites were detected, and 41 significant metabolomic quantitative trait loci (mQTLs; LOD score  $>4$ ) were identified. Several examples illustrate the utility of this approach: (1) A significant mQTL on chromosome 11 (LOD score 7.5) associated with hepatic proline concentration correlated with hepatic expression of *Prodh1* ( $r = -0.82$ ,  $p = 3.55 \times 10^{-6}$ ). A *Prodh1* cis-eQTL overlapped this mQTL, supporting its role in proline catabolism. (2) Hepatic levels of N-alpha-acetylglycine were regulated by an mQTL on chromosome 4 (LOD score 8.5) that colocalized with a delta L-NAME blood pressure QTL and a cis-eQTL for *Nat8f1*, a candidate gene involved in arginine acetylation. This suggests a potential link between

N-alpha-acetylarginine metabolism and blood pressure regulation. (3) Hepatic concentrations of several lipid species were linked to an mQTL near the Cd36 gene on chromosome 4. Cd36 expression was cis-regulated, and the mQTL overlapped with a lipolysis QTL, implicating Cd36 in hepatic lipid metabolism. **Conclusions:** This integrative metabolomic and genetic analysis in HXB/BXH RI strains identifies candidate genes and pathways underlying metabolic regulation in the liver. Our findings highlight the value of combining metabolomics with systems genetics to uncover gene-metabolite-trait relationships relevant to metabolic syndrome, obesity, and hypertension.

## Vazodilatační látky z hlohu: screening a stanovení mechanismu účinku

Šajnová M, Mladěnka P, Pourová J

Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové

**Úvod:** Standardizovaný extrakt z hlohu (*Crataegus spp.*) rozšiřuje cévy a zlepšuje jejich pružnost. Účinná látka není známa. **Cíl:** Otestovat vazodilatační účinky vybraných látek obsažených v hlohu. **Materiál:** 21 látek s rozmanitou strukturou (flavonoidy, glykosidy, pentacyklické triterpeny) a vstřebatelných metabolitů (malé fenolické kyseliny). **Metodika:** Testování ex vivo na 3 typech izolovaných cév ze 2 živočišných druhů (prase, potkan). **Výsledky:** Dvě neúčinnější látky, izorhamnetin a tamarixetin, navodily vazodilataci ve všech zvolených modelech – prasečí koronární tepny (EC50 = 21,7 a 30,9 μM); potkaní aorty (16,7 a 23,3 μM) a potkaní mezenterické tepny (22,2 a 16,8 μM). Izorhamnetin i tamarixetin blokovaly vazokonstrikci indukovanou aktivací vápenatých kanálů L-typu a tento účinek byl dávkově závislý. Naopak, jejich účinky nezávisely na přítomnosti funkčního endotelu, ani nebyly přímo spojeny s draselnými kanály nebo s kaskádou cGMP/proteinkinázy G. **Závěr:** Vazodilatační účinky izorhamnetinu a tamarixetinu z hlohu jsou pravděpodobně zprostředkovány inhibicí vstupu vápníku do buněk hladkého svalu cév nebo související intracelulární kaskády.

Projekt GAUK 236923

## Hepatic mQTL associated with phenylacetylglutamine, phenacetic acid, and phenyl glucuronic acid – metabolites of microbial origin – colocalize with fat weight QTL

Šimáková M<sup>1</sup>, Mlejnek P<sup>1</sup>, Šilhavý J<sup>1</sup>, Čajka T<sup>1</sup>, Pravenec M<sup>1</sup>, Liška F<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague

<sup>2</sup>Institute of Biology and Medical Genetics, 1<sup>st</sup> Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic

**Introduction:** The gut microbiota is a key modulator of host physiology and metabolism, influencing disease development through the production of bioactive metabolites. Integrative analysis of fecal and liver metabolomes, the microbiome, and the liver transcriptome in animal models can help elucidate the roles of microbial metabolites, dysregulated metabolic pathways, and altered gene expression patterns in the development of metabolic syndrome. **Methods:** The liver metabolome of HXB/BXH recombinant inbred (RI) strains, derived from SHR and BN progenitors, was profiled using LC-MS. Genetic and correlation analyses were performed with the GeneNetwork online platform. **Results:** Three metabolome QTLs (mQTLs) colocalizing on chromosome 3 were associated with phenylacetylglutamine (PAGln), phenacetic acid, and phenylglucuronic acid—microbial-derived metabolites detected in the liver metabolome. These metabolites may share a common mQTL. All three are products of phenyl group metabolism, which can arise from both endogenous and microbial pathways. Moreover, PAGln, phenacetic acid, and phenylglucuronic acid showed inverse correlations with epididymal fat weight, and their shared mQTL colocalized with the QTL for epididymal fat weight on chromosome 3. **Conclusion:** These findings suggest the presence of a shared genetic regulator influencing both phenyl metabolism and adiposity. They also support previous reports implicating PAGln in lipid metabolism and obesity in humans.

## IL-6/sIL-6R activates monocyte adhesion to human aortic endothelial cells via modulation of endoglin and cell adhesion molecules

Vašinová M<sup>1</sup>, Tripská K<sup>1</sup>, Diepoltová A<sup>1</sup>, Nachtigal P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological and Medical Sciences, Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové, Czech Republic

**Introduction:** Interleukin-6 (IL-6) is a key pro-inflammatory cytokine implicated in the initiation and progression of atherosclerosis, which promotes endothelial activation, adhesion molecule expression, and monocyte recruitment. Endoglin (ENG), a co-receptor of the Transforming Growth Factor family, is critical during endothelial inflammation and monocyte adhesion, and transmigration. VCAM-1 and ICAM-1 are cell endothelial adhesion molecules, biomarkers of endothelial dysfunction, which are responsible for monocyte adhesion and transmigration during atherogenesis. **Aim:** To investigate the effects of IL-6/sIL-6R on ENG and adhesion molecule (VCAM-1, ICAM-1) expression, adhesion, and transmigration of monocytes in human aortic endothelial cells (HAEC). **Materials and Methods:** HAEC were treated with IL-6/sIL-6R (both 100ng/ml, 24 hours). ENG, VCAM-1, and ICAM-1 protein expression was assessed by flow cytometry. sENG concentration in culture supernatants was quantified by ELISA. Adhesion and transmigration assays were performed using Vybrant DiO-labeled THP-1 monocytes and measured by a flow cytometer. mRNA expression of ENG-related transcription factors and inflammatory markers was analysed by qRT-PCR. **Results:** IL-6/sIL-6R stimulation did not alter ENG mRNA levels, but reduced protein expression of membrane ENG and VCAM-1, while increasing ICAM-1. Elevated sENG in supernatants suggests that ENG downregulation occurs via proteolytic shedding rather than transcriptional changes. Functional assays revealed enhanced THP-1 adhesion to the HAEC monolayer, meanwhile transmigration of monocytes through the endothelial monolayer was reduced. **Conclusion:** IL-6/sIL-6R promotes adhesion of monocytes probably via ICAM-1; however, reduced ENG expression suggests its critical role during the transmigration, showing a complex interplay of ENG and cell adhesion molecules during IL-6 mediated endothelial dysfunction in HAEC.

Charles University Grant Agency (GAUK, n.o. 288322)

## Small-vessel disease – vedlejší nález při hodnocení důsledků domnělé statinové intolerance

Vitásková M<sup>1</sup>; Valkounová I<sup>2</sup>; Pelcová K<sup>3</sup>; Adámková V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum preventivní medicíny IKEM, Praha

<sup>2</sup>Elektromyografie, Praha

<sup>3</sup>Affidea Praha s.r.o.

**Úvod:** Diagnóza small-vessel disease neboli mikroangiopatie, tedy postižení malých arterií, arteriol, kapilár, venu a malých vén je zmiňována v oblasti koronárního nebo cerebrálního cévního řečiště. Jedná se o zastřešující termín pro různé etiologické jednotky, nejčastější z nich je postižení aterosklerotické. Tyto cévy jsou příliš malé pro běžné zobrazení in vivo, a proto se diagnostika soustředí na důsledky jejich postižení v přilehlých tkáních. Výskyt těchto změn narůstá s věkem a se špatnou kompenzací rizikových faktorů. **Prezentovaná pacientka:** Pacientka Š. A. se smíšenou hyperlipoproteinémií uvádí při léčbě statiny motání hlavy, brnění hlavy a nohou. Koncentrace sérové kreatin kinázy je dlouhodobě v normálním rozmezí hodnot, a to jak při léčbě statinem, tak po jeho vysazení (s-CK: 1,90...2,15...2,03...1,54  $\mu$ kat/l [0,48–2,80  $\mu$ kat/l]). Obtíže po vysazení statinu však přetrvávají. **Metodika:** (1) elektromyografie (EMG), včetně jehlové EMG (2) magnetická rezonance mozku (MR mozku). **Výsledky:** (1) EMG, včetně jehlové: bez známek kořenového postižení C páteře, bez postižení periferních nervů, jehlová EMG neprokázala postižení svalů – doporučena rehabilitace krční páteře. (2) MR mozku: mnohočetné ložiskové změny v bílé hmotě supratentoriálně, nespecifického charakteru, mohou být nejspíše postischemické (small-vessel disease?) či pozánětlivé etiologie. **Závěr:** Při pátrání po důsledcích domnělé statinové intolerance nebylo jehlovou EMG postižení svalů prokázáno. Neurologem indikovaná MR mozku prokázala ložiskové, nejspíše postischemické změny v rámci small-vessel disease, možná je i etiologie pozánětlivá. Tento nález potvrdil potřebu důsledné hypolipidemické terapie v jakékoliv pacientkou tolerované formě. Při vertebrogenním algickém syndromu je zároveň nutná i péče rehabilitační.

## Ultradiánní cykly u myši ovlivňují hladinu glukózy nezávisle na příjmu potravy

Vydrová M<sup>1</sup>, Haluzík M<sup>2</sup>, Reitman M<sup>3</sup>, Škop V<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentální medicíny IKEM, Praha

<sup>2</sup>Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT, Praha

<sup>3</sup>National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, NIH, Bethesda, MD, USA

**Úvod:** Diabetes mellitus 2. typu je charakterizován dlouhodobě zvýšenou hladinou glukózy v krvi a patří mezi hlavní rizikové faktory aterosklerózy. Přestože se hyperglykemie tradičně spojuje především s příjmem potravy, její regulace je výsledkem složitých interakcí více procesů. Myši jsou často využívaný model pro studium diabetu i aterosklerózy. Mechanizmy, kterými je u myši regulována glykemie mimo příjem potravy, a porozumění, jak se tyto mechanismy liší od lidských, jsou stále nedostatečně prozkoumané. Narozdíl od lidské, je myší fyziologie epizodická, organizovaná do ultradiánních cyklů, při kterých dochází ke změnám v energetickém výdeji, tělesné teplotě a aktivitě. **Metodika:** V této práci jsme využili nově vyvinutý algoritmus pro automatizovanou detekci ultradiánních cyklů u myši a studovali jsme, jak tyto cykly ovlivňují glykemii. Tento algoritmus představuje výpočetní postup, který umožňuje objektivní a přesné vymezení období zvýšeného energetického výdeje a jejich odlišení od klidových intervalů. Následně jsme s pomocí dat z kontinuálního monitorování glukózy sledovali, zda v průběhu těchto cyklů dochází k nárůstu glykemie a do jaké míry je tento nárůst podmíněn příjmem potravy. **Výsledky:** Kros-korelační analýza ukázala, že změny energetického výdeje dobře korespondují s příjmem potravy; změny v glykemii se pak projeví asi se 14 min zpožděním. Ultradiánní cykly v energetickém výdeji pak byly spojeny jak s nárůstem glykemie, tak s příjmem potravy. Proto jsme se dále soustředili na změny glykemie v závislosti na množství přijaté potravy v rámci jednoho cyklu, kde jsme překvapivě nepozorovali významnou závislost. Dokonce i v cyklech, kde nedocházelo k žádnému příjmu potravy, byla glykemie zvýšená, zároveň byl pozorován nárůst glykemie se začátkem ultradiánního cyklu nezávisle na příjmu potravy a často dříve, než k tomuto příjmu došlo. **Závěr:** Výsledky ukazují, že glykemie se u myši mění v rámci ultradiánních cyklů, částečně nezávisle na příjmu potravy. Regulace glukózové homeostázy je komplexní proces, který nelze vysvětlit pouze postprandiálními změnami. Poznatky pak mají zásadní význam pro interpretaci a přenos výsledků myších experimentů, neboť k těmto cyklům u lidí nedochází.

*EXCELES (LX22NPO5104) – Next Generation EU*

*A2\_FPBT\_2025\_005 – vědecká interní grantová soutěž VŠCHT*