proLékaře.cz | 28.9.2026

Fellowship ČSAT: German Heart Center Munich – Technical University Munich

18. 2. 2019–17. 8. 2019

Martin Šatný[1,2]

[1]III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze
[2]German Heart Center Munich of the State of Bavaria and Technical University Munich, Germany

✉ **MUDr. Martin Šatný** | martin.satny@vfn.cz | www.vfn.cz

Doručeno do redakce/Doručené do redakcie/Received 4. 9. 2019

V období mezi 18. únorem a 17. srpnem 2019 probíhala má stáž ve výzkumné laboratoři prof. Wolfganga Koeniga v Deutsches Herzzentrum München. Zde jsem byl zapojen do řešení části většího projektu s názvem OPERATION (Elucidate monocyte phenotype to predict arterial wall inflammation).

V úvodu bych se rád zmínil o charakteristice a podstatě celého projektu. Je všeobecně známo, že až 70 % všech kardiovaskulárních (KV) příhod nelze předejít navzdory adekvátní hypolipidemické terapii. V pracích zabývajících se tímto reziduální rizikem se diskutuje především role imunitně zprostředkovaného zánětu cévní stěny (zejména pak role monocyto-makrofágového systému), který se zdá být klíčovým hráčem nejen v rozvoji aterosklerotických plátů, ale také v procesu jejich destabilizace.

V souladu s výsledky experimentálních modelů aterosklerózy se zdá, že zánětlivá aktivita probíhající v aterosklerotických plátech je úzce spojena s influxem plazmatických leukocytů, přesněji monocytů a z nich vycházejících makrofágů, jež se liší svým „chováním“. Cirkulující monocyty vykazují různý stupeň heterogenity, podle kterého lze do jisté míry predikovat schopnost daných elementů migrovat do cévní stěny, tj. kruciální krok procesu aterosklerózy. Předpokládá se, že určení fenotypu cirkulujících monocytů by mohlo posloužit nejen jako indikátor tíže aterosklerotického postižení, ale také jako prognostický ukazatel v rámci KV-prevence. Stále častěji se tedy začíná hovořit o reziduálním nikoliv „lipidovém“, ale „zánětlivém“ riziku.

Dosud zkoumané tradiční biomarkery zánětu nebyly schopné predikovat zánětlivé postižení cévní stěny; ve světle posledních poznatků se proto vědecký zájem obrací k determinaci fenotypu monocytů a s nimi spojených plazmatických metabolitů, jakožto možných markerů KV-rizika. Postupně se upustilo od stanovování jednotlivých biomarkerů, ale v souladu se studiemi prezentovanými předními leadery v oboru aterosklerózy (např. práce Ganz et al) se přešlo k myšlence stanovování jakýchsi biomarkerových vzorů/podpisů, jež mají lepší výpovědní hodnotu o zánětlivém postižení cév, respektive eventuální KV-riziku. Proto byla také vytvořena iniciativa ke vzniku studie OPERATION – jedné z mnoha prací podporovaných evropskou výzkumnou agenturou ERA-CVD. Projekt OPERATION (Elucidate monocyte phenotype to predict arterial wall inflammation) si klade za cíl stanovení právě oněch biomarkerových vzorů/podpisů korelujících se zánětlivým postižením cévní stěny, a to na základě kombinování metabolického modelování dat získaných z experimentů s monocyty a plazmatickou proteomikou. Tato data by v budoucnu měla být nápomocna k vytvoření optimálního biomarkerového vzoru/podpisu schopného predikovat KV-riziko, a to jak v primární, tak sekundární prevenci.

Celý projekt OPERATION probíhá ve spoluprací s nizozemskou vědeckou skupinou pod vedení prof. Stroese, přičemž tamější práce zahrnuje spíše „kliničtější“ část projektu. Nizozemskými kolegy byla cíleně vybrána skupina 208 KV-rizikových pacientů; jednalo se o pacienty s vysokým lipoproteinem (a) – Lp(a), revmatologickým onemocněním nebo pacienty s vysokým nebo velmi vysokým KV-rizikem. Plazma těchto probandů byla odeslána do švédské firmy OLINK, jež je schopná stanovit širokou škálu prozánětlivých a dalších biomarkerů asociovaných s KV-onemocněními (KVO). Analýza výsledků pak vedla k jasnému závěru, že lze vyčíst biomarkerové vzory/podpisy určující rizikovost daného nemocného k budoucí KV-příhodě, přičemž u vysoce rizikových aterosklerotických plátů bylo vyšší zastoupení MMP12, PLA2G7, TNFRSF10A, TRANCE, REN, TNFRSF13B, PRSS27, MEPE či CD4, ale naopak nižší TNFRSF10C a SERPINA7. Obdobná situace nastala také u pacientů s nízce rizikovými aterosklerotickými pláty, kde bylo zaznamenáno vyšší zastoupení LEP a UMOD, ale nižší GDF-15, CCL24, CHIT1, REN, PLA2G7, MMP12, OPG, TNFRSF9 či MB. Z výsledků lze usuzovat na zcela zásadní roli monocyto-makrofágového systému v procesu rozvoje i destabilizace aterosklerotickým plátů.

Cílem mého působení v Mnichově bylo ověření dat z in vivo studií v podmínkách in vitro, tj. zda stimulace monocytů (respektive jejich derivátů – THP-1 buněk) hlavními aterosklerotickými hráči (Lp (a), oxidovaný LDL-cholesterol (oxLDL), oxidované fosfolipidy izolované z povrchu Lp(a) – oxPL či remnantní

proLékaře.cz | 28.9.2026

cholesterol) skutečně vede k produkci monocyt-specifických cytokinů a definovaní obdobných biomarkerových vzorů/podpisů, jaké byly získány v „in vivo“ studiích.

Během prvním týdnů stáže jsem získal řešením dílčích úkolů z projektů mých kolegů potřebné praktické dovednosti a zkušenosti v základních laboratorních metodách (např. izolace DNA, elektroforéza jejich fragmentů, pěstování buněčných kultur a jejich stimulace, ELISA či Western blotting), které jsem dále využil v rámci svých experimentů.

Původně bylo zvažováno, že se ke stimulacím využijí monocyty od zdravých dárců, avšak vzhledem k jejich velmi komplikované separaci se tyto nahradily buněčnými kulturami THP-1 buněk – liniemi vycházejícími z leukemického klonu monocytů, které dobře mimikují fenotyp běžných monocytů. Jak již bylo zmíněno výše, postupně byly provedeny stimulace THP-1 buněk Lp(a), oxPL, oxLDL a také remnatním cholesterolem získaným od pacientů s familiární dysbetalipoproteinemií (ten byl poskytnut laskavostí prof. J. Kroona). Takto získaný materiál byl dále zpracován následujícím způsobem: (1) separován supernatant k další analýze biomarkerů, (2) jedna polovina stimulovaných buněk byla lyzována k dalšímu studiu RNA a (3) druhá pak k analýze proteinové.

Jelikož se jednalo o finančně náročné analýzy, bylo nutné pečlivě vybrat nejvhodnější biomarkery, které by dobře korelovaly s daty získanými z OLINK a mohly být změřeny příslušnými ELISA kity. I přes složitost toho výběru, byly nakonec všechny studie úspěšně provedeny a toho času se zpracovávají výsledky k jejich budoucí publikaci, a to nejen v rámci pravidelného ročního hodnocení projektů sponzorovaných ERA-CVD.

Během svého pobytu jsem byl také vyslán na 3 denní meeting všech projektů probíhajících pod záštitou ERA-CVD do Rigy, kde byla prezentována impozantní data vedoucí evropských laboratoří zabývajících se problematikou aterosklerózy.

Celkově hodnotím svou stáž jako velmi zdařilou a přínosnou, a to v mnoha ohledech. Měl jsem možnost nahlédnout do vskutku excelentní laboratoře, jejíž vědeckou a publikační kvalitu lze srovnat s pracemi celosvětového aterosklerotického „guru“ prof. Libbyho. Bylo velkou zkušeností zapojit se do provozu a fungování nejen zdejší laboratoře, ale celého vzdělávacího systému – často velmi rozdílného od toho našeho. Jednalo o fakultní pracoviště, kde se vyskytovali zejména postgraduální studenti nejrůznějších přírodovědných či farmaceutických oborů, kteří se dále dělili do menších pracovních skupin vedených lékaři zdejší kardiologické kliniky. Každý týden pak jeden po druhém prezentovali výsledky své práce přednostovi kardiologické kliniky a diskutovali s ním a vedoucími svých prací případné nedostatky, nejasnosti či další kroky jejich výzkumu. Každý z postgraduálních studentů pak k sobě měl většinou jedno studenta (zejména medicíny), který do jisté míry participoval na projektu svého školitele a plnil si tak povinnou část své disertační práce nutné k obhájení magisterského titulu. Výše zmíněný „hierarchní“ systém fungoval velmi dobře a jistě by mohl být dobře aplikovatelný i v našich podmínkách – lékaři nastiňují hypotézy, které spolu s laboratorně orientovanými kolegy ověřují. „Take home message“ by také mohlo být osvojení si prezentace a diskuse vlastních výsledků, jež je zde naprosto rutinní záležitostí.

Závěrem bych znovu rád poděkoval za finanční podporu poskytnutou ČSAT, která spolu s programem ERASMUS dopomohla k hladkému průběhu celé stáže.