

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Farmacie

Autor: Veronika Hamerníková

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Ivana Němečková, Ph.D.

Název práce: Imunohistochemická analýza vlivu TRC105 na proces jaterní fibrózy

Diplomová práce se zabývá analýzou exprese biomarkerů jaterní fibrózy jater myší. Cílem práce bylo otestovat účinek léčiva TRC105 (carotuximab) na modelu fibrotizovaných jater po 4 týdenním podávání DDC (3,5-diethoxykarbonyl-1,4-dihydro-2,4,6-kolidin). Byla zkoumána a porovnávána depozice kolagenu a exprese α -SMA, GFAP a endoglinu. Zvířata byla v experimentu rozdělena do 3 skupin: kontrolní skupina (n=6), DDC skupina (n=6) a TRC105 skupina (n=6). Kontrolní skupina byla krmena standardní dietou, DDC a TRC105 skupině byl v dietě podáván 0,1% DDC. Kontrolní a DDC skupině byl aplikován fyziologický roztok, skupině TRC105 bylo aplikováno léčivo. Analýza exprese pak byla prováděna na fixovaných jaterních řezech. Exprese kolagenu byla vyhodnocena barvením Picro-Sirius Red a exprese α -SMA, GFAP a endoglinu metodou imunohistochemie ve fluorescenčním zobrazení.

Histologické barvení kolagenních vláken Picro-Sirius Red ukazuje, že DDC dieta vyvolává rozvoj jaterní fibrózy. Větší intenzita zabarvení v porovnání s kontrolní skupinou byla pozorována u DDC a TRC105 skupiny. Mezi zabarvením kolagenních vláken u DDC a TRC105 skupiny nebyl vyzorován příliš velký rozdíl. V případě imunohistochemické detekce markerů α -SMA a GFAP byla intenzita jejich exprese podobná u obou DDC a TRC105 skupin v porovnání s kontrolní skupinou. Exprese endoglinu byla u DDC a TRC105 skupiny oproti kontrolní skupině snížena.

Výsledky práce ukazují indukci jaterní fibrózy pomocí DDC, avšak po podávání carotuximabu nedošlo k očekávanému zmenšení plochy fibrotické tkáně. Překvapivě jsme mezi skupinami nezaznamenali změny v expresi markerů, které charakterizují buňky podílející se na rozvoji jaterní fibrózy. Snížená exprese endoglinu u DDC a TRC105 skupiny může naznačovat, že endoglin nehraje klíčovou roli v procesu jaterní fibrózy. Naše výsledky bude potřeba ověřit dalšími metodami, např. Western Blot analýzou.

Klíčová slova

Jaterní fibróza, Kolagen, TRC105, α -SMA, GFAP, Endoglin, Imunohistochemie