

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Pavla Podhorná

Školitel: PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.

Název diplomové práce: Vliv dexametazonu na expresi *ABCB1* a *CYP3A4* v tkáňových řezech z lidského střeva

Dexametazon je kortikosteroid, který má protizánětlivé, imunosupresivní a antialergické účinky. Mechanismus účinku dexametazonu spočívá v jeho schopnosti vázat se na intracelulární glukokortikoidní receptory, které jsou přítomny v mnoha typech buněk, včetně buněk střevní sliznice. Po navázání na tyto receptory dochází k jeho translokaci do jádra buněk a ovlivňování genové exprese. Tímto mechanismem je ve střevní sliznici schopen ovlivňovat také expresi genů, které jsou důležité pro metabolismus a transport xenobiotik. Mezi nejdůležitější takovéto geny patří *ABCB1*, důležitý střevní transportér, a *CYP3A4* významný biotransformační enzym. Jejich lokalizace ve stěně tenkého střeva může významně ovlivňovat absorpci perorálně podaných léčiv. Studium lékových interakcí na tomto transportéru a biotransformačním enzymu je důležité pro bezpečnou a účinnou farmakoterapii.

Pro zjištění, zda má dexametazon vliv na expresi těchto genů ve střevní bariéře jsme využili metodu ultra-tenkých tkáňových lidských řezů. Tzv. precision-cut intestinal slices (PCIS) představují mini-model střevní bariéry a obsahují všechny typy buněk studované tkáně. Touto metodou lze studovat chování střevní bariéry v reálném čase a ve fyziologickém prostředí, což může přispět k lepšímu pochopení mechanismů, které ovlivňují farmakokinetiku léčiv. Zatím však existují jen omezené informace o využití této techniky ve studiu indukce genové exprese.

Nejprve jsme se zaměřili na vliv dexametazonu na ovlivnění životaschopnosti střevních řezů v průběhu inkubace. Dále jsme pak zjišťovali, zda dexametazon má vliv na expresi *ABCB1*, *CYP3A4* a glukokortikoidního receptoru v námi zvoleném modelu střevní bariéry. Jako poslední cíl bylo zjistit, zda případné ovlivnění exprese má vliv na transport modelového substrátu rhodaminu123 prostřednictvím *ABCB1* v neovlivněných a ovlivněných střevních řezech.

Střevní řezy jsme inkubovali s dexametazonem o koncentraci 50 μM a 100 μM po dobu 48 hodin. Jako kontrolní látka byl použit známý induktor rifampicin o koncentraci 30 μM . Expres genů byla hodnocena metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qPCR). Ze získaných měření koncentrace ATP plyne, že dexametazon nemá negativní vliv na viabilitu tkáně. U inkubace s dexametazonem byl (50 μM a 100 μM) zaznamenán nárůst exprese pro *CYP3A4* i *ABCB1*. K signifikatnímu nárůstu došlo především u *CYP3A4*, a to v časech 24 a 48 h. U glukokortikodního receptoru byly všechny časy i sledované skupiny pod úrovní kontroly, včetně dexametazonu 50 μM a rifampicinu 30 μM . Pouze u dexametazonu 100 μM po 12 h, byla exprese mírně nad úrovní kontroly. Intracelulární koncentrace rhodaminu123 nebyla indukcí ve většině případů ovlivněna. Ke snížení koncentrace došlo pouze u dexametazonu 100 μM , jednalo se však pouze o jeden experiment.