

Souhrn

Hlavním limitujícím faktorem pro distribuci léčiv v těle je přítomnost fyziologických bariér. Placentární a hematotestikulární bariéra k nim bezesporu patří. Placenta je důležitý endokrinní orgán zprostředkovávající kontakt mezi matkou a plodem. Kromě dodávky živin plodu a odvodu zplodin metabolismu z plodu hraje placenta důležitou roli též v ochraně plodu. Klíčovou roli v ochraně plodu hraje vrstva syncytiotrofoblastu, která funguje nejen jako mechanická bariéra, ale také díky expresi biotransformačních enzymů a transportérů jako tzv. metabolická bariéra. Syncytiotrofoblast exprimuje též nukleární receptory, jež regulují transkripci genů podílejících se na výživě, minerálním metabolismu, proliferaci a diferenciaci, nebo mohou regulovat také expresi enzymů a transportérů. Ve varleti se na ochraně zárodečných buněk podílí hematotestikulární bariéra tvořená zejména těsnými a adhezními spoji mezi Sertoliho buňkami. Mezibuněčné spoje mezi Sertoliho buňkami a buňkami zárodečnými jsou zásadní také pro zachování zdárného vývoje spermií.

V rámci disertační práce jsme se zaměřili na studium **VDR** v placentě, placentárním trofoblastu a choriokarcinomových liniích BeWo a JEG3. VDR je exprimován jak v placentě (exprese na úrovni mRNA i proteinu), tak v kulturách primárního trofoblastu. Nicméně, jeho funkce v placentární fyziologii není zcela jasná. U BeWo a JEG3 choriokarcinomových linií jsme zjistili, že exprese VDR je velmi nízká ve srovnání s placentou a izolovaným trofoblastem. Za použití různých přístupů jsme se snažili odhalit příčinu nízké exprese VDR ve studovaných placentárních liniích. BeWo a JEG3 jsme inkubovali s látkami podporujícími diferenciaci buněk (jednalo se o 17β -estradiol a forskolin), dále s inhibitory deacetylas (trichostatin, sodium butyrát) a inhibitory DNA-metylas (3-deoxy-5-azacytidin). Zjistili jsme, že exprese VDR je částečně obnovena po inkubaci placentárních buněčných linií BeWo a JEG-3 s butyrátem sodným a 3-deoxy-5-azacytidinem. Tyto výsledky svým způsobem vysvětlují příčinu nedostatečné exprese VDR v choriokarcinomových liniích (epigenetická regulace). Mimo genomický efekt jsme prokázali, že vitamin D má také negenomové účinky na VDR nezávislé. Ukázali jsme, že $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stimuluje fosforylaci ERK1/2 kináz v choriokarcinomové linii JEG-3, což by mohlo mít za následek ovlivnění genové exprese nezávisle na přítomnosti VDR. Tato práce má zásadní význam pro další studium funkce VDR v placentární fyziologii a metabolismu.

Další publikovaná práce se zabývá expresí a funkcí **BCRP** v placentě potkana. Cílem této studie bylo popsat roli Bcrp v placentární farmakokinetice, a to za použití potkaní trofoblastové buněčné linie HRP-1 a duálně perfundované potkaní placenty. Za použití real

time RT-PCR a Western blotu byla potvrzena exprese BCRP v HRP-1 a potkání placentě. Imunohistochemická analýza potvrdila přítomnost placentárního Bcrp v trofoblastu labyrintové zóny placenty. Data tak naznačují, že BCRP je přítomen v trofoblastu placenty a může tak plnit svou úlohu v transplacentární farmakokinetice u experimentálního zvířete. Transportní studie za použití duálně perfundované placenty potkana potvrdila, že BCRP, podobně jako P-glykoprotein, brání vstupu modelových substrátů z mateřského kompartmentu do plodu a zároveň se podílí na eliminaci látek transportovaných BCRP/*Bcrp1* z plodu do mateřské cirkulace. Jelikož placentární „bariéra“ potkana je morfologicky i funkčně v mnoha ohledech velmi podobná lidské placentě, výsledky mají velkou prediktivní hodnotu pro transplacentární farmakokinetiku i u člověka.

Další práce je zaměřena na studium exprese **P-kadherinu** ve zdravém varleti potkana. Sleduje rovněž změny týkající se morfologického obrazu varlete a exprese P-kadherinu v průběhu poškození operativně navozeným kryptorchismem a busulfanem. Charakter exprese P-kadherinu v semenotvorném tubulu zdravého varlete se měnil v závislosti na stadiu semenotvorného epitelu. Expozice busulfanem a také kryptorchismus vedly k destruktivním změnám semenotvorných tubulů, spolu se snížením exprese P-kadherinu. Z výše uvedeného vyplývá, že P-kadherin se podílí na struktuře adherentních spojů ve varleti potkana a hraje důležitou roli pro udržení normální spermatogeneze. Jak kryptorchismus tak busulfanové poškození vede k desintegraci adherentních spojů.

Závěrem lze říci, že studie týkající se exprese **VDR** v placentárních buněčných liniích pomůže mnohým dalším badatelům objasnit funkci VDR v placentární fyziologii. Předmětem dalšího studia bude například ověřit, zda se VDR podílí na transkripční regulaci konkrétních biotransformačních enzymů (CYP3A4) či transportérů (P-gp), ať již v placentě či jiných orgánových systémech. Již v současné době pracujeme na studii transkripční regulace vybraných biotransformačních enzymů a transportérů právě prostřednictvím VDR, PXR a CAR, a to nejen na placentárních, ale také na jaterních a střevních buněčných modelech. Z výsledků další studie vyplývá, že efluxní lékový transportér **BCRP** exprimovaný v placentě je významným faktorem ovlivňujícím prostup léčiv z matky do plodu. Znalost jeho substrátové specifity a funkční aktivity by mohlo být využito v optimalizaci farmakoterapie u těhotných žen. Odhalení úlohy **P-kadherinu** při narušené spermatogenezi nabízí možnost objasnit některé z příčin a mechanismů mužské neplodnosti, a to zejména ve spojení se studiem dalších proteinů podílejících se na tvorbě mezibuněčných spojů (těsných, adhezivních spojů, nexů), cytoskeletu či bazální membrány.