

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Farmakologie a toxikologie

Kandidát **Mgr. Lucie Stejskalová**

Školitel **Doc. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D.**

Název disertační práce **Regulace exprese biotransformačních enzymů a transportérů placentární bariéry**

Placenta je jedinečný orgán komunikace mezi matkou a plodem. Je nezbytná pro udržení těhotenství, vývoj plodu, ochranu plodu a zajišťuje řadu funkcí, především pak výměnu látek a plynů mezi matkou a plodem. Významná je také její endokrinní a metabolická funkce. Klíčovou roli v ochraně plodu hraje vrstva syncytiotrofoblastu, která funguje nejen jako fyziologická bariéra, ale také jako metabolická bariéra díky expresi mnoha biotransformačních enzymů a transportérů. Hladina jednotlivých biotransformačních enzymů se v průběhu těhotenství mění. Většina enzymů má velmi nízké množství mRNA a v některých případech nebyla zjištěna ani jejich významná hladina proteinu či enzymová aktivita.

Cytochrom CYP1A1 je jediný placentární enzym metabolizující xenobiotika, jehož exprese a aktivita je signifikantní po celou dobu těhotenství. Navíc se zjistilo, že exprese a aktivita placentárního CYP1A1 je silně indukována u matek kuřaček a v choriokarcinomových buněčných liniích BeWo a JEG-3 při jejich kultivaci s ligandy arylhydrokarbonového receptoru (AHR). AHR receptor je aktivován hydrofobními aromatickými sloučeninami, mezi které patří například polycyklické nebo halogenované aromatické hydrokarby. Tyto látky se do ovzduší uvolňují během spalování pevných odpadů, spalování kamenouhelného dehtu a dřeva nebo jsou součástí tabákového kouře.

Jak exogenní, tak i endogenní glukokortikoidy se podílejí na transkripční regulaci CYP1A1. Transplacentární podávání glukokortikoidů před 35. týdnem těhotenství je indikováno u žen, u kterých hrozí předčasný porod. Antenatální podání glukokortikoidů má příznivý vliv na zrání plic a snižuje riziko vzniku syndromu respirační tísně (Respiratory distress syndrome, RDS) u předčasně narozeného dítěte. Kromě prevence RDS chrání podávání glukokortikoidů novorozence také před intraventrikulárním krvácením, nekrotizující enterokolitidou a snižuje riziko systémové infekce v prvních hodinách života novorozence.

V této disertační práci jsme jako první zevrubně popsali expresi AHR a jeho arylhydrokarbonového receptorového nukleárního translokátoru (ARNT) v lidských a potkaních placentách a zaměřili jsme se také na studium transkripční aktivity lidského placentárního AHR při regulaci svých cílových genů CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, UGT1A1 a BCRP, které jsou důležité pro metabolismus a transport endogenních i exogenních látek přes placentu. Výsledky ukázaly, že vlivem modelových AHR ligandů je indukce CYP1A1 mRNA v porovnání s dalšími AHR cílovými geny (CYP1A2, CYP1B1, UGT1A1, BCRP) statisticky signifikantní v primárních kulturách lidských trofoblastů. Popsali jsme také placentární lokalizaci AHR a ARNT proteinů v lidské placentě, která se shodně nachází v prvním a třetím trimestru především v syncytiotrofoblastu. Potkaní placentární Ahr a Arnt proteiny jsou hlavně exprimované v placentárním trofoblastu. Jejich exprese na úrovni proteinu je pak maximální v 15. a 21. dni březosti potkana. Na základě tohoto zjištění můžeme usuzovat, že u potkana může docházet k rozdílné indukci Cyp1a1 v průběhu březosti.

V dalším výzkumu jsme se zaměřili na studium účinků glukokortikoidů na indukci CYP1A1 a dalších cílových genů AHR receptoru vyvolanou AHR ligandem 3-metylcholantrenem (3MC) v primárních kulturách lidských trofoblastů. Výsledky ukázaly, že vlivem samotného dexametazonu nedojde k signifikantním změnám v bazální expresi u cílových genů AHR receptoru (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, UGT1A1, BCRP) ani u genů pro AHR, ARNT a AHRR (arylhydrokarbonový receptorový represor). Samotný dexametazon nezpůsobil změny na proteinové úrovni CYP1A1, ani na úrovni enzymové (Etoxyresorufin-O-deetyláza, EROD) CYP1A1 aktivity. Naproti tomu indukce CYP1A1 mRNA vyvolaná 3MC byla signifikantně zvýšená v lidské kultuře trofoblastů vlivem glukokortikoidů. U ostatních AHR cílových genů a AHR, ARNT a AHRR

nebyla změna indukce statisticky signifikantní ve všech primárních kulturách lidských trofoblastů. Dexametazon rovněž stimuloval nárůst enzymové aktivity CYP1A1 způsobené 3MC v kulturách lidského trofoblastu.

Celkově mohu shrnout, že mezi nejdůležitější poznatky této doktorské disertační práce patří popis exprese a aktivity AHR receptoru v lidské placentě a zjištění, že glukokortikoidy stimulují genovou regulaci některých cílových genů AHR receptoru v lidských trofoblastových kulturách.