

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Pharmacology and Toxicology

Kandidát **Mgr. Davoud Ahmadimoghaddam**

Školitel **Prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D**

Název disertační práce **Organic cation transporter 3 (OCT3) a multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE1) v placentě: exprese, lokalizace a funkce.**

Cílem této studie bylo popsat expresi, lokalizaci a funkci dvou transportérů, organic cation transporter 3 (OCT3) a multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE1) v placentě potkana. Pomocí qRT-PCR, Western blotting a imunohistochemie jsme detekovali vysokou expresi OCT3 na fetální straně placentárního trofoblastu a expresi MATE1 na straně mateřské. Pro studium role těchto transportérů v transplacentární farmakokinetice jsme využili in situ metodu duálně perfundované potkaní placenty v otevřeném i uzavřeném systému a 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) byl použit jako modelový substrát OCT3 a MATE1. Naše výsledky dokazují, že OCT3 a MATE1 způsobují asymetrii v transplacentárním přechodu MPP+ s výraznou převahou transportu z plodu do matky. Pomocí uzavřeného systému duální perfúze potkaní placenty jsme dále popsali schopnost OCT3 a MATE1 transportovat MPP+ z plodu do matky, a to i proti koncentračnímu gradientu. Dále jsme aplikovali různé hodnoty pH (6,5, 7,3, a 8,5) na mateřské straně placenty a zjistili, že opačně směřovaný H+ gradient je hnací silou transportu MPP+ z plodu do matky, což potvrzuje roli MATE1 v eliminaci MPP+ z buněk trofoblastu do mateřského oběhu.

V další části naší studie jsme předpokládali, že změny v expresi placentárního Oct3/OCT3 a Mate1/MATE1 v průběhu březosti mohou ovlivnit ochranu plodu a jeho detoxikaci. V potkaní placentě jsme detekovali Oct3/OCT3 a Mate1/MATE1 již ve 12. dnu gestace (gd), přičemž exprese se v průběhu březosti dále zvyšovala. Exprese OCT1 byla stabilní u lidských placent odebraných v prvním vs. třetím trimestru těhotenství, zatímco exprese izoform OCT2,3 klesala. Ačkoliv v dostupné literatuře jsou pouze negativní informace o přítomnosti transportérů MATE1 a MATE2 v lidské placentě, nám se podařilo jejich expresi detekovat, ale s velkou intra- a interindividuální variabilitou. S využitím infuze MPP+ do krevního oběhu březích samic jsme zjistili, že nejvyšší množství MPP+ dosáhne fetální cirkulace v 12. gd, zatímco od 15. gd do konce březosti transport ve směru z matky do plodu výrazně klesá.

V závěrečné fázi naší studie jsme popsali transplacentární přechod metforminu, jenž je substrátem OCT i MATE transportérů a je užíván během těhotenství k léčbě gestačního diabetu. Pozorovali jsme na koncentraci závislou eliminaci metforminu v materno-fetálním i feto-maternálním směru a zaznamenali jsme rovněž schopnost OCT3 a MATE1 transportovat toto léčivo z fetálního do mateřského kompartmentu i proti výraznému koncentračnímu gradientu. Dále jsme aplikovali různé hodnoty pH (6,5, 7,3, a 8,5) na mateřské straně placenty a zjistili jsme, že opačně směřovaný H+ gradient je hnacím motorem transportu metforminu z plodu do matky, což potvrzuje roli MATE1 v eliminaci metforminu z buněk trofoblastu.

Z našich výsledků vyplývá, že OCT3, v závislosti na koncentraci, transportuje organické kationty, jako MPP+ nebo metformin, z fetálního oběhu do placenty, zatímco na druhé straně bariéry je MATE1 odpovědný za eflux těchto kationtů z placenty do mateřského oběhu. Mimoto jsme došli k závěru, že zvýšená exprese Oct3/OCT3 a Mate1/MATE1 v potkaní placentě spolu s vyžíváním placentární tkáně má za následek výrazné snížení přechodu organických kationtů z matky do plodu. Snížení exprese OCT3 a MATE1 v lidské placentě v průběhu těhotenství naopak naznačuje, že tyto transportéry mohou hrát roli v ochraně plodu přednostně v dřívějších fázích těhotenství.

OCT3 a MATE1, tak tvoří účinnou transplacentární eliminační jednotku a hrají důležitou roli v ochraně a detoxikaci plodu. Toto je poprvé, kdy byl transport kationtů zprostředkovaný OCT3 a MATE1 popsán v placentě.