

# Abstrakt

**Úvod:** Kost je v průběhu života značně aktivní tkání, která podléhá konstantním remodelacím. Na střídavé resorpci a novotvorbě mají hlavní podíl osteoklasty, osteoblasty a osteocyty. Osteoklasty jsou jediné známé buňky se schopností odbourávat kostní tkáň. Tyto buňky vznikají fúzí prekurzorů v kostní dřeni nebo monocytů v periferní krvi v procesu zvaném osteoklastogeneze. Vznik osteoklastů z periferních prekurzorů může hrát významnou roli v souvislosti s chronickými zánětlivými chorobami, u nichž je známé zvýšené riziko rozvoje osteoporózy v průběhu života. Jednou z těchto chorob je celiakie, při níž u postižených jedinců po příjmu lepku v potravě dochází k rozpadu střevní sliznice a rozvoji chronického zánětu. V této práci jsme se zaměřili na potenciální roli osteoklastogeneze při rozvoji osteoporózy u pacientů s celiakií a ověřili jsme obecně vlivy vybraných zánětlivých agens (TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$  a cfDNA) s předpokládanými nebo hypotetizovanými účinky v osteoklastogenezi.

**Materiál a metody:** V plazmě a séru nově diagnostikovaných pacientů s celiakií, pacientů na dietě a zdravých kontrol jsme analyzovali koncentrace cfDNA a cytokinů TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$ . Séra těchto pacientů a kontrol jsme spolu s rekombinantními cytokiny užívali v kultivacích. Pro ověření vlivu cfDNA jsme séra ošetřovali DNázou. Diferenciaci osteoklastů v přítomnosti různých faktorů jsme prováděli při 14denních kultivacích monocytů izolovaných z krve od zdravých dárců. Vyhodnocení osteoklastogeneze probíhalo mikroskopicky a na základě měření genových expresí, kde jsme sledovali exprese charakteristických genů *ACP5*, *CTSK* a *CALCR*.

**Výsledky:** Mezi skupinami pacientů a zdravými kontrolami jsme nenaměřili odlišné koncentrace žádného ze sledovaných zánětlivých faktorů. V přítomnosti séra nově diagnostikovaných pacientů vznikalo v průměru o více než 50 % vyšší množství osteoklastů, než v přítomnosti séra zdravých jedinců. Cytokin IL-6 v našich experimentech přímo inhiboval osteoklastogenezi, u TNF- $\alpha$  jsme pozorovali trend zvýšení osteoklastogeneze. V případě IFN- $\gamma$  jsme pozorovali stimulační i inhibiční efekty, které byly odlišné pro buňky různých dárců. V pilotních výsledcích z ověření role cfDNA jsme pozorovali trend několikanásobně nižší osteoklastogeneze po ošetření séra DNázou.

**Závěr:** Naše výsledky naznačují, že v séru nově diagnostikovaných pacientů s celiakií existuje faktor či více faktorů, které nemusí souviset se zánětem a které výrazně zvyšují osteoklastogenezi z periferních prekurzorů. Tento efekt se zdá být velmi významný a mohl by být jednou z příčin zvýšeného rizika osteoporózy v celiakii. V případě vlivu jednotlivých cytokinů se zdá, že by IFN- $\gamma$  mohl hrát důležitou roli v modulaci efektů ostatních cytokinů a že jeho působení na diferenciaci osteoklastů je u monocytů různých jedinců odlišné. Výsledky z ověření vlivu cfDNA ukazují na její možnou významnou roli v osteoklastogenezi a měly by být dále zkoumány na jiných modelech s užitím různých metod.

**Klíčová slova:** osteoklast, osteoklastogeneze, osteoporóza, zánět, zánětlivá onemocnění, celiakie, TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , cfDNA