

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Student: Daniel Diviš

Školitel: Prof. Dr. Florence Apparailly, Directrice de Recherche
Prof. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D. (formální školitel)

Název diplomové práce:

Role miR-150 v patofyziologii oligoartikulární juvenilní idiopatické artritidy

Juvenilní idiopatická artritida (JIA) je nejčastější chronické onemocnění revmatoidního charakteru postihující děti, přesto jsou mechanismy jeho patofyziologie z velké části neprozkoumány. Zásadní roli hrají v těchto procesech složky vrozené a získané imunity, včetně buněk myeloidní řády. U zánětlivých onemocnění byly popsány epigenetické deregulace zahrnující i nekódující mikroRNA. Mimoto, předběžné výsledky získané týmem Prof. Florence Apparailly ukázaly akumulaci přechodných monocytů a zároveň vyšší expresi miR-150 v synoviální tekutině dětí postižených oligoartikulární JIA. Na základě těchto objevů vznikla hypotéza naznačující určitou roli miR-150 v patofyziologii tohoto onemocnění, přesněji v regulaci diferenciaci monocytů a jejich funkcí. Za účelem prostudování účinku, který má miR-150 na monocyty, bylo provedeno několik transfekcí klasických monocytů (separovaných z periferní krve zdravých dárců) inhibitorem miR-150. Buňky byly následně označeny příslušnými protilátkami a podrobeny průtokové cytometrii se záměrem kvantifikace jednotlivých podtypů monocytů ve vzorku. Současně byl proveden in silico experiment, ve kterém byly využity miRNA databáze k nalezení potenciálních cílů miR-150. Pro analýzu genové exprese v monocytech transfekovaných miR-150 inhibitorem byla zvolena metoda RT-qPCR. Pokles přechodných monocytů byl zřetelný u 4 ze 6 transfekcí miR-150 inhibitorem ve srovnání s kontrolními vzorky. 10 genů ze 48 zkoumaných mělo potlačenu expresi a 27 mělo expresi zvýšenu, z toho 7 se statistickou významností ($p < 0.05$). Při srovnání in silico a in vitro experimentů data ukazují, že CCR2 by mohl být přímým cílem miR-150-5p v lidských monocytech. Zmíněné výsledky naznačují, že by miR-150 mohla opravdu hrát značnou roli v patofyziologii oligoartikulární JIA mobilizací monocytů z kostní dřeně a chemotaxí do tkání postižených zánětem.