

## Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Šárka Strachonová

Školitel: PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.

Název diplomové práce: Studium regulace genové exprese nukleosidových transportérů  
v buněčné linii BeWo

Nukleosidové transportéry (NTs) lokalizované v syncytiotrofoblastu zprostředkovávají vychytávání nukleosidů a podílí se na placentárním přestupu od nukleosidů odvozených léčiv. Dysregulace NTs může vést k ovlivnění nukleosidové homeostázy s negativním dopadem na vývin placenty a plodu a může vést ke změně placentární farmakokinetiky léčiv. Proto je porozumění exprese a funkce NTs nutná pro účinnou a bezpečnou farmakoterapii v období těhotenství. Cílem bylo studovat regulační dráhy genové exprese koncentračního nukleosidového transportéru 2 (CNT2) aktivované adenylátcyklázou (AC). K tomu byly použity dvě metody, qRT-PCR a *in vitro* akumulací zkoušky využívající modelový substrát [<sup>3</sup>H]-adenosin. Buněčná linie BeWo, odvozená od lidského placentárního choriokarcinomu, byla vystavena působení aktivátoru AC, forskolinu (50 μM) a/nebo inhibitorů signálních drah AC/cAMP/PKA a AC/cAMP/MAPK (MEK1/2 a p38 MAPK), tedy inhibitoru PKA, KT 5720 (5 μM), inhibitoru MEK1/2, U0126 (10 μM) a inhibitoru p38 MAPK, SB202190 (10 μM). Indukce genové exprese CNT2 způsobená forskolinem byla inhibovatelná KT 5720 a U0126. Aplikace jednotlivých inhibitorů však neovlivnila expresi genu v buňkách, které nebyly vystaveny forskolinu. Všechny testované inhibitory ale způsobily nižší vychytávání [<sup>3</sup>H]-adenosinu (inkubace 1 min), ale při inkubaci 15 min byl tento jev pozorován pouze u KT 5720. Lze tedy předpokládat, že inhibice drah cAMP/PKA, cAMP/MEK1/2 a cAMP/p38 MAPK vede k blokaci účinku forskolinu na CNT2 a zároveň tyto inhibitory pravděpodobně ovlivňují distribuci CNT2 do cytoplazmatické membrány. Nižší zastoupení CNT2 v membráně však ovlivňuje pouze rychlost vychytávání adenosinu, nikoliv jeho konečnou intracelulární koncentraci v delších časových úsecích. Nad rámec těchto zjištění jsme také popsali, že koncentrace glukózy či fetálního séra v kultivačním médiu neovlivňuje expresi CNT2. Tato práce přispěla k porozumění molekulárních mechanismů regulace CNT2 transportéru u BeWo linie.