

## **Abstrakt**

Glukokortikoidy hrají významnou roli v regulaci zánětlivého procesu a pro svůj imunosupresivní účinek jsou užívány v terapii celé řady zánětlivých onemocnění. Biologická aktivita glukokortikoidů nezávisí pouze na plazmatické koncentraci hormonu, hustotě jejich receptorů a rezpozibilitě cílových buněk, ale také na lokálním metabolismu glukokortikoidů. Klíčovým enzymem tohoto metabolismu je dehydrogenáza 11 $\beta$ -hydroxysteroidů (11HSD). Jsou známy dvě izoformy tohoto enzymu. Isoforma 11HSD1 pracuje převážně jako reduktáza a zvyšuje lokální koncentraci biologicky aktivních glukokortikoidů (kortizol) z jejich neaktivních 11-oxo derivátů (kortizon). Isoforma 11HSD2 pracuje pouze jako dehydrogenáza, a snižuje tedy lokální koncentraci biologicky aktivních glukokortikoidů jejich přeměnou na neaktivní 11-oxo deriváty. Bylo publikováno několik prací o funkci periferního metabolismu glukokortikoidů v průběhu zánětlivého procesu. Většina prací byla provedena in vitro. Cílem této práce bylo: (1) prozkoumat změny a chování periferního metabolismu glukokortikoidů na modelu kolitidy u potkana vyvolané aplikací trinitrobenzensulfonové kyseliny (TNBS). (2) Prozkoumat změny periferního metabolismu glukokortikoidů v humánních vzorcích střeva postiženého ulcerosní kolitidou (3) prozkoumat změny periferního metabolismu glukokortikoidů u potkana s kolitidou indukovanou dextransulfátem (4) prozkoumat změny v periferním metabolismu glukokortikoidů v průběhu adjuvantní artritidy u potkana. Na řešení cíle jedna byli použiti potkani kmene Wistar, u kterých byla indukována kolitida aplikací TNBS. K řešení úkolu 2 byly získány lidské vzorky střevní tkáně postižené ulcerosní kolitidou. Úkol 3 byl řešen pomocí potkanů kmene Wistar u kterých byla indukována kolitida pomocí orální aplikace DSS. Úkol 4 byl řešen pomocí potkanů kmene Lewis, u kterých byla indukována cFA adjuvantní artritida. Ke studiu byly použity enzymové a molekulárně biologické metody, včetně jednokrokové RT PCR v reálném čase.

(1) V průběhu experimentální TNBS kolitidy byly nalezeny změny periferního metabolismu glukokortikoidů ve smyslu vzestupu reduktázové aktivity 11HSD a poklesu aktivity oxidázové. Zároveň dochází k vzestupu exprese 11HSD1 mRNA a poklesu exprese 11HSD2 mRNA. Podávání neselektivního inhibitoru karbenoxolonu vedlo k poklesu oxidázové aktivity téměř o 50% a nemělo žádný vliv na expresi prozánětlivých cytokinů TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , ani na míru infiltrace střevní tkáně buňkami imunitního systému.

(2) Bylo zjištěno, že průběhu ulcerosní kolitidy dochází ke zvýšené expresi

11HSD1 mRNA a poklesu exprese 11HSD2 mRNA. Ulcerosní kolitida je také spojena se vzestupem exprese TNF- $\alpha$  a IL1- $\beta$  v zánětlivě postižené střevní tkáni. Za tento vzestup je pravděpodobně spoluodpovědný stimulační účinek prozánětlivých cytokinů, vliv infiltrovaných buněk imunitního systému a zvýšená systémová hladina kortizolu na podkladě hyperaktivace HPA osy.

(3) V průběhu DSS kolitidy dochází v zánětlivě postižené střevní tkáni k vzestupu exprese 11HSD1 mRNA a poklesu 11HSD2 mRNA. V souladu s tím, dochází k vzestupu reduktázové aktivity 11HSD a poklesu aktivity oxidázové. Nalezené změny tedy plně korelují s nálezy u vzorků ulcerosní kolitidy.

(4) V průběhu adjuvantní artritidy dochází k signifikantnímu vzestupu hladin mRNA 11HSD1 ve srovnání s kontrolní skupinou a tento vzestup exprese koreluje s nárůstem reduktázové aktivity enzymu. Tyto změny jsou pozorovány jak v synoviální tkáni, tak ve spádových lymfatických uzlinách. Podávání inhibitoru karbenoxolonu signifikantně zvyšuje makroskopické projevy zánětu a zvyšuje expresi TNF- $\alpha$  mRNA, COX-2 mRNA a OPN mRNA, avšak neovlivňují plazmatické hladiny kortikosteronu. Zdá se tedy, že ačkoliv v průběhu adjuvantní artritidy dochází ke zvýšené expresi 11HSD1 mRNA a aktivitě jak v synoviocytech, tak ve spádových lymfatických uzlinách, zřejmě pouze v synoviální tkáni je enzym dostatečně aktivní k tomu, aby reguloval zánětlivý proces na úrovni organismu.