

Abstrakt

1. Úvod

Estrogeny indukovaná cholestáza je onemocnění charakterizované poruchou tvorby a toku žluči u žen užívajících antikoncepci, hormonální substituční terapii nebo u těhotných. Metabolismus estrogenů je komplexní proces s tvorbou metabolitů různé biologické aktivity. Probíhá primárně v játrech (fáze I, hydroxylace a fáze II, methylace, sulfatace a glukuronidace). Za glukuronidaci estrogenů jsou zodpovědné enzymy z rodiny UDP-glukuronosyltransferáz, označované zkratkou UGT.

1. Cíl práce

Cílem práce je definovat metabolismus estrogenů a exprese genů UGT1A1, CYP1A2 a SULT1A1 u potkanů kmene Gunn a definovat cholestatické jaterní poškození u potkanů s vrozeným defektem enzymu UGT1A1 (kmen Gunn) ve srovnání s potkany s normální aktivitou enzymu a pokusit se odvodit mechanismy, kterými k jaternímu poškození dochází.

2. Metodika

Potkanům kmene Gunn a odpovídajícím heterozygotům s normální aktivitou UGT1A1 byla indukována cholestáza subkutánní aplikací ethinylestradiolu (5mg/kg) po dobu 5-ti dní. Šestý den byla zvířata usmrcena a byla jim odebrána plasma a jaterní tkáň k dalším analýzám. Markery cholestázy a jaterního poškození: ALP, AST, ALTa bilirubin byly stanoveny na automatickém analyzátoru, celkové žlučové kyseliny spektrofotometricky. Z jater jsem izolovala mRNA, přepsala do cDNA a provedla jsem kvantitativní real-time PCR klíčových enzymů estrogenového metabolismu pomocí TaqMan analýzy. Hodnotila jsem exprese genů UGT1A1, CYP1A2 a SULT1A1.

3. Výsledky

U potkanů kmene Gunn došlo po aplikaci ethinylestradiolu (EE) k signifikantnímu nárůstu cholestatických markerů ve srovnání s heterozygoty (sérové žlučové kyseliny 10x, ALP 5,4x, $p \leq 0,05$). Exprese UGT1A1 byla u heterozygotů ve srovnání s kontrolami po podání EE signifikantně zvýšená (3x, $p = 0,02$). Aplikace EE rovněž vedla u potkanů kmene Gunn k většímu poklesu exprese CYP1A1 (o

54%) a SULT1A1 (o 84%) oproti odpovídajícím heterozygotům (o 27% a 70%, $p \leq 0,05$).

4. Závěr

Zjistili jsme, že UGT1A1 deficientní potkani vyvinuli významně těžší cholestázu ve srovnání s odpovídajícími heterozygoty. Defekt UGT1A1 vede k odlišnému metabolismu estrogenů, poruše hydroxylace, glukuronidace i sulfatace, což může mít za následek hromadění toxických estrogenových metabolitů a vznik cholestázy.

Klíčová slova: Gilbertův syndrom, UGT1A1, Gunn, glukuronidace, UDP-glukuronosyltransferáza, ethinylestradiol, cholestáza, CYP1A2, SULT1A1, metabolismus estrogenů, intrahepatální cholestáza těhotných