

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická Fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Magdaléna Svobodová

Školitelé: Assoc. Prof. Přemysl Mladěnka, Ph.D.

Assoc. Prof. Maria da Glória Correia da Silva Queiroz, Ph.D.

Název diplomové práce: Mikroglie kontrolují astrogliózu zprostředkovanou adenosinovými A_{2A}-receptory

V centrální nervové soustavě mají astrocyty a mikroglie stěžejní funkci při řízení zánětlivé odpovědi. Během zánětu uvolňují umírající a poškozené buňky do okolí molekuly ATP, které slouží jako „signál nebezpečí“, podílející se na rozvoji astrogliosy a podporující odstraňování poškozené tkáně mikroglie a dalšími buňkami imunitního systému. Produkt metabolisme ATP, adenosin, také zvyšuje proliferaci astrocytů. Jeho působení na astrogliosu je však pravděpodobně mnohem komplexnější, protože zároveň ovlivňuje fenotyp mikroglie, které, jak se zdá, mohou zamezovat nadměrné proliferaci astrocytů zprostředkované nukleotidy. V těchto souvislostech jsou ATP a adenosin pokládány za důležité signální molekuly, které řídí astrogliosu a její modulaci mikroglie, nicméně se stále neví, zda a jak mikroglie ovlivňují astrogliosu zprostředkovanou adenosinem. Tato studie si klade za cíl objasnit roli mikroglie při kontrole adenosinem navozené astrogliosy.

Z mozkové kůry novorozenech potkanů (stáří: 0-2 dny) byly připraveny dva druhy primárních buněčných kultur: kultury astrocytů obsahující asi 15% mikroglie a „čisté“ kultury astrocytů, které byly téměř bez mikroglie (<1%). Tyto kultury byly použity ke zkoumání účinku P₁ agonistů na inkorporaci methyl-[³H]-thymidinu a ke zjištění přítomnosti A_{2A} receptorů pomocí Western blot analýzy.

V „čistých“ astrocytárních kulturách adenosin (0.001-0.3 mM) zvýšil proliferaci astrocytů až na $172 \pm 5\%$ (n=7; P<0.05), ale účinek byl zeslaben na $131 \pm 5\%$ (n=5; P<0.05) po přidání 30 nM selektivního antagonisty A_{2A} receptoru SCH 58261

a na $125 \pm 6\%$ ($n=5$; $P<0.05$) po přidání 10 nM selektivního antagonisty A_{2B} receptoru MRS 1706. Selektivní agonista A_{2A} receptoru CGS 21680 (1-100 nM) vyvolal nárůst proliferace astrocytů na $155 \pm 3\%$ ($n=4$; $P<0.05$), zatímco agonista A_1 receptoru CPA (1-100 nM) a agonista A_3 receptoru 2-Cl-IB-MECA (1-100 nM) neměli žádný účinek. Kromě toho se proliferační účinek adenosinu (100 μM ; $179 \pm 4\%$; $n=5$, $P<0.05$) snížil na $107 \pm 7\%$ ($n=3$; $P<0.05$) inhibicí proteinkinázy A (PKA) pomocí 1 μM H-89 a na $120 \pm 6\%$ ($n=4$, $P<0.05$) inhibicí mitogenem aktivované proteinkinázy kinázy 1/2 (MEK1/2) pomocí 10 μM U0126.

V kulturách obsahujících 15% mikroglíí byl proliferační efekt vyvolaný adenosinem a CGS 21680 (v koncentracích uvedených výše) nižší než ten který byl naměřen v "čistých" kulturách astrocytů. Adenosin zvýšil proliferaci jen na $142 \pm 8\%$ ($n=4$; $P<0.05$) a CGS 21680 na $126 \pm 5\%$ ($n=4$; $P<0.05$).

Výsledky Western blot analýzy svědčí o tom, že A_{2A} receptory se vyskytují jak v čistých astrocytárních kulturách, tak i v kulturách astrocytů s mikroglíemi a jsou přítomny v obou typech těchto buněk.

Výsledky ukázaly, že proliferace astrocytů vyvolaná adenosinem je zprostředkovaná A_{2A} a A_{2B} receptory spojenými s vnitrobuněčnou dráhou PKA-ERK a že tento efekt může být oslabený působením mikroglíí.