

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Veronika Řepová

Školitel: Prof. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D., Prof. Ramiro Jover Atienza, Ph.D.

**Název diplomové práce: Změny genové exprese hepatobiliárních transportérů jako potenciální mechanismy vzniku polékové cholestázy navozené amoxicilinem a kyselinou klavulanovou**

Amoxicilin a kyselina klavulanová (AMO/CLA) představují v současné době jednu z nejčastějších příčin idiosynkratického polékového poškození jater (DILI). Navzdory obtížím v diagnostice a vyhodnocování kauzality byly již klinické projevy zdokumentovány a ve většině případů klasifikovány jako cholestatické jaterní poškození. Počet studií týkajících se molekulárních mechanismů polékové cholestázy se stále zvětšuje, přičemž role hepatobiliárních transportérů se ukázala být pro patogenezi zásadní. Molekulární mechanismy vzniku DILI navozeného AMO/CLA však zůstávají stále neobjasněny. Za účelem prozkoumat hepatotoxický efekt AMO/CLA a AMO *in vitro* byly jako hepatocelulární modely použity buňky HepG2 a lidské hepatocyty Upcyte. Hladiny mRNA klíčových transportérů pro žlučové kyseliny (BAs), enzymů a jaderných receptorů (NRs) byly změřeny použitím kvantitativní polymerázové řetězové reakce. Cytotoxické koncentrace AMO a AMO/CLA byly vyloučeny pomocí testů buněčné životaschopnosti. Kromě toho byla exprese důležitých proteinových transportérů pro BAs stanovena Western blot analýzou a obrazová dokumentace kultivovaných buněk byla zajištěna pomocí digitální mikroskopie. Výsledky dokládají, že AMO/CLA způsobil rozsáhlé změny v genové expresi transportérů pro BAs, enzymů a NRs, zatímco samotný AMO ovlivnil expresi testovaných genů minimálně. Kombinace AMO/CLA byla konkrétně schopna snížit mRNA hladinu „bile salt export pump“ (BSEP), což by mohlo představovat doposud nejvýznamnější objevený pro-cholestatický mechanismus. Exprese genu a proteinu transportéru zajišťujícího vychytávání konjugovaných BAs, „Na<sup>+</sup>-taurocholate co-transporting polypeptide“ (NTCP), byla naopak díky AMO/CLA snížena, což může představovat kompenzační odezvu na kumulované BAs. Předpokládá se však, že v patogenezi DILI po AMO/CLA mohou být zapojeny i další přídatné faktory. Výsledky proto umožňují dojít k závěru, že AMO/CLA negativně ovlivňuje expresi klíčových transportérů pro BAs, což by mohlo bránit fyziologickému toku žluče a podpořit tak cholestatický typ DILI.