

8 SOUHRN

P-glycoprotein (P-gp) je membránový transportní protein přítomný v cytoplazmatické membráně buněk hlavních fyziologických bariér, například v mozku, ledvinách, plicích a placentě. Přestože popisu tohoto proteinu bylo věnováno již mnoho studií, jeho přesná lokalizace a funkce v plicích není doposud plně objasněna. Ke studiu pulmonární absorpce léčiv *in vitro* se s výhodou používají buněčné modely, například linie bronchiálních buněk Calu-3. Předchozí studie zabývající se výzkumem P-gp v Calu-3 prokázaly nesrovnalosti v rámci aktivity a lokalizace tohoto proteinu. Účelem předkládané disertační práce bylo systematické studium vlivu P-gp na absorpci léčiv v buňkách Calu-3, primárních kulturách lidských bronchiálních buněk (NHBE) a izolovaných krysích plicích (IPL). Intestinální buněčná linie Caco-2, která vykazuje nadměrnou expresi P-gp byla ve studii použita jako pozitivní kontrola. Aktivita a lokalizace P-gp v buňkách byla studována pomocí permeačních experimentů s využitím P-gp substrátu digoxinu a inhibitorů verapamilu a GF120918A. Za účelem studia P-gp v buněčných systémech byly buňky pěstovány na polyesterových filtrech (Transwell®) na rozhraní vzduch-medium (Calu-3, NHBE) nebo medium-medium (Caco-2). Integrita buněčných vrstev byla doložena hodnotou fluxu [¹⁴C]-mannitolu. Transport digoxinu v Calu-3 linii se lišil v závislosti na použité pasáži buněk, době kultivování buněk a použitím inhibitoru. Eflux digoxinu, který bylo možné ovlivnit přítomností GF120918A byl pozorován pouze u buněk pasáže vyšší než 53. Zdánlivá permeabilita digoxinu v Calu-3 a Caco-2 buňkách byla statisticky významně větší ($p > 0.05$) ve směru z apikální k basální buněčné straně jak bylo doloženo hodnotou effluxu 2.08 a 8.58 v 21 den v kultuře. Efflux v Calu-3 a Caco-2 byl snížen o 40.0 % , respektive 50.9 % v přítomnosti GF120918A. V NHBE byl transport digoxinu v basálním směru 2.58-krát vyšší než v apikálním a nebyl ovlivněn přítomností GF120918A. V podobném smyslu inhibitor GF120918A neovlivnil absorpci digoxinu v modelu izolovaných krysích plic, přestože přítomnost P-gp v plicní tkáni byla potvrzena pomocí imunohistochemie. Nicméně hodnota absorpce digoxinu v tomto modelu byla významně zvýšena ($p > 0.05$) z 28.7 ± 9.9 % ($t = 90$ min, bez přítomnosti inhibitoru) na 43.5 ± 6.7 % za použití verapamilu obsaženém v perfusním roztoku, což naznačuje přítomnost aktivního transportního mechanismu v IPL modelu.