

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Prostaglandin E₂ a jeho význam v organismu

Markéta Fojtíková

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Markéta Fojtíková**
Osobní číslo: **C14260**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Prostaglandin E2 a jeho význam v organismu**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Seznamte se s významem prostaglandinu E2 v lidském organismu, uveďte jeho biosyntézu, metabolismus, funkci v progresi i resoluci zánětu, úlohu jednotlivých mediátorů a receptorů v modulování zánětlivé odpovědi, se zaměřením na vztah k ateroskleróze a poškození cévní stěny. Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte databázi MEDLINE.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

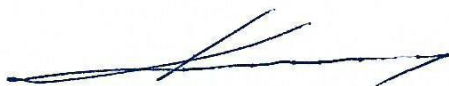
Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd


Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 26. 6. 2017

.....
Markéta Fojtíková

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce paní MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, Ph.D. za věnovaný čas, ochotu, vstřícnost a odborné rady při zpracování této práce.

ANOTACE

Prostaglandin E₂ je jedním z nejrozšířenějších zástupců skupiny prostaglandinů. Řadí se do skupiny lipidových mediátorů, které mohou prostřednictvím aktivace svých specifických receptorů regulovat široké spektrum jak fyziologických, tak i patologických procesů lidského organismu. Výčet účinků prostaglandinu E₂ je velice rozsáhlý, jelikož se podílí na regulaci funkcí většiny orgánových soustav. Nicméně jeho úloha je spojena také s procesy patologickými. Prostaglandin E₂ je důležitým mediátorem rozvoje zánětlivé reakce, při níž navozuje vznik klasických známek zánětu. Jeho funkce je spojena také s rozvojem cévních zánětlivých onemocnění, jako je ateroskleróza, která může být příčinou infarktu myokardu nebo cévní mozkové příhody. Funkce prostaglandinu E₂ a jeho specifických receptorů je často zkoumanou oblastí především ve spojení s rozvojem nových léčiv.

KLÍČOVÁ SLOVA

Prostaglandin E₂, EP receptory, zánět, ateroskleróza, trombocyty

TITLE

Prostaglandin E₂, its role in human organism

ANNOTATION

Prostaglandin E₂ is one of the most widespread agents in the prostaglandin group. It belongs to a group of lipid mediators that can regulate a wide range of both physiological and pathological processes of the human organism by activating their specific receptors. The list of effects of prostaglandin E₂ is very extensive as it is involved in the regulation of the functions of most organ systems. However, its role is also associated with pathological processes. Prostaglandin E₂ is an important mediator of the development of an inflammatory reaction that causes the appearance of classic signs of inflammation. Its function is also associated with the development of vascular inflammatory diseases such as atherosclerosis, which may be the cause of myocardial infarction or stroke. The function of prostaglandin E₂ and its specific receptors is the area under intensive research, primarily in association with the development of new drugs.

KEYWORDS

Prostaglandin E₂, EP receptors, inflammation, atherosclerosis, platelets

OBSAH

0	ÚVOD	11
1	MASTNÉ KYSELINY	12
2	KYSELINA ARACHIDONOVÁ	14
3	EIKOSANOIDY	15
3.1	Syntéza eikosanoidů	15
3.1.1	Lipoxygenázová cesta	16
3.1.1.1	Leukotrieny	17
3.1.1.2	Lipoxiny	18
3.1.2	Cesta cytochromu P450	18
3.1.2.1	Hydroxyeikosatetraenové kyseliny	19
3.1.2.2	Epoxyeikosatetraenové kyseliny	19
3.1.3	Cyklooxygenázová cesta	19
3.1.3.1	Prostanoidy obecně	20
3.1.3.2	Tromboxany	20
3.1.3.3	Prostaglandiny	21
4	HISTORIE OBJEVU PROSTAGLANDINŮ	23
5	PROSTAGLANDIN E ₂	26
5.1	Chemická struktura	26
5.2	Syntéza	26
5.3	Sekrece	28
5.4	Receptory	29
5.4.1	Receptory EP1	30
5.4.2	Receptory EP2	30
5.4.3	Receptory EP3	30
5.4.4	Receptory EP4	31
5.5	Degradace	31

6	FARMAKOLOGIE PROSTAGLANDINU E ₂	33
7	VÝZNAM PROSTAGLANDINU E ₂ V ORGANISMU	34
8	ZÁNĚTLIVÁ REAKCE	39
8.1	Průběh zánětu	39
8.2	Prostaglandin E ₂ jako mediátor zánětu.....	40
8.2.1	Prozánětlivé účinky prostaglandinu E ₂	41
8.2.1.1	Zvýšení cévní permeability	41
8.2.1.2	Regulace cytokinů	42
8.2.1.3	Rozvoj bolesti.....	43
8.2.2	Protizánětlivé účinky prostaglandinu E ₂	45
9	PROSTAGLANDIN E ₂ V KARDIOVASKULÁRNÍM SYSTÉMU	46
9.1	Ateroskleróza.....	47
9.1.1	Úloha prostaglandinu E ₂ při ateroskleróze	48
9.1.1.1	Role EP1 receptorů při ateroskleróze.....	49
9.1.1.2	Role EP2 receptorů při ateroskleróze.....	49
9.1.1.3	Role EP3 receptorů při ateroskleróze.....	50
9.1.1.4	Role EP4 receptorů při ateroskleróze.....	51
9.1.2	EP receptory jako terapeutické cíle při ateroskleróze.....	53
10	ZÁVĚR	56
11	POUŽITÁ LITERATURA.....	57

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Biosyntéza ω -3 a ω -6 mastných kyselin.....	13
Obrázek 2 Syntéza eikosanoidů	16
Obrázek 3 Vzorec prostaglandinu E ₂	26
Obrázek 4 Biosyntéza a metabolismus prostaglandinu E ₂	32
Obrázek 5 Prostaglandinem E ₂ stimulovaný mechanismus zvýšení cévní permeability.....	42
Obrázek 6 Prostaglandinem E ₂ stimulovaná regulace imunitních buněk	43
Obrázek 7 Prostaglandinem E ₂ stimulovaný mechanismus rozvoje bolesti	44
Obrázek 8 Progrese aterosklerózy v čase	47
Obrázek 9 Účinek prostaglandinu E ₂ na funkci trombocytu	51
Obrázek 10 Souhrn funkcí EP1, EP2, EP3 a EP4 receptorů při ateroskleróze.....	53
Obrázek 11 Inhibice EP3 receptoru trombocytu pomocí antagonisty DG-041	54
Obrázek 12 Chemická struktura atorvastatinu a antagonistů EP receptorů.....	55

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Receptory prostaglandinu E ₂	29
Tabulka 2 Souhrn funkcí prostaglandinu E ₂	37

SEZNAM ZKRATEK

AA	kyselina arachidonová
ATP	adenosintrifosfát
cAMP	cyklický adenosin-3', 5'-monofosfát
COX-1	cyklooxygenáza 1
COX-2	cyklooxygenáza 2
cPGES	cytosolová prostaglandin E syntáza
cPLA ₂	cytosolová fosfolipáza A ₂
CYP	cytochrom P450
EET	epoxyeikosatetraenová kyselina
GDP	guanosindifosfát
GTP	guanosintrifosfát
HETE	hydroxyeikosatetraenová kyselina
HPETE	hydroperoxyeikosatetraenová kyselina
MAPK	mitogenem aktivovaná proteinkináza
MMP-2	matrixová metaloproteináza 2
MMP-9	matrixová metaloproteináza 9
mPGES-1	mikrosomální prostaglandin E syntáza 1
mPGES-2	mikrosomální prostaglandin E syntáza 2
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát
NF-κB	nukleární faktor κB
NSAID	nesteroidní protizánětlivá léčiva
PGD ₂	prostaglandin D ₂
PGE ₂	prostaglandin E ₂
PGES	prostaglandin E syntáza
PGF _{2α}	prostaglandin F _{2α}
PGG ₂	prostaglandin G ₂
PGH ₂	prostaglandin H ₂
PGI ₂	prostacyklin I ₂
PGT	prostaglandinový transportér
PLA ₂	fosfolipáza A ₂
TXA ₂	tromboxan A ₂
15-PGDH	15-hydroxyprostaglandin dehydrogenáza

0 ÚVOD

Zánětlivá reakce je primární obranný mechanismus organismu na jakoukoliv infekci nebo poškození tkáně. Podstatou tohoto obranného mechanismu je lokalizace postiženého místa, odstranění škodlivých faktorů a následná reparace poškozené tkáně. Jakékoliv selhání některého z reparačních procesů zánětlivé reakce vede k rozvoji chronického zánětu, který může být důsledkem dlouhodobě přetrvávajícího infekčního procesu, autoimunitního onemocnění nebo rozsáhlých traumat. Chronický systémový zánět je součástí patogeneze mnoha onemocnění, jako je metabolický syndrom, rakovina, revmatoidní artritida, astma, infarkt myokardu nebo ateroskleróza. V souvislosti s rozvojem nových terapeutických postupů při léčbě aterosklerózy jsou podrobně zkoumány jednotlivé mediátory účastníci se tohoto chronického zánětlivého procesu. Mezi takovými mediátory se řadí i skupina prostaglandinů vznikající z kyseliny arachidonové, z nichž nejrozšířenější je prostaglandin E₂.

Cílem této bakalářské práce je seznámení se strukturou, biosyntézou, metabolismem, funkcemi prostaglandinu E₂ v lidském organismu a jeho úlohou především při zánětlivé reakci a rozvoji aterosklerózy.

1 MASTNÉ KYSELINY

Polynenasycené esenciální mastné kyseliny jsou důležitými složkami všech buněčných membrán. Musejí být přijímány potravou, jelikož je organismus není schopen syntetizovat (Das, 2006). Jsou nezbytnou součástí většiny biofyzikálních, biochemických a signalizačních procesů lidského organismu (Ferreri et al., 2016).

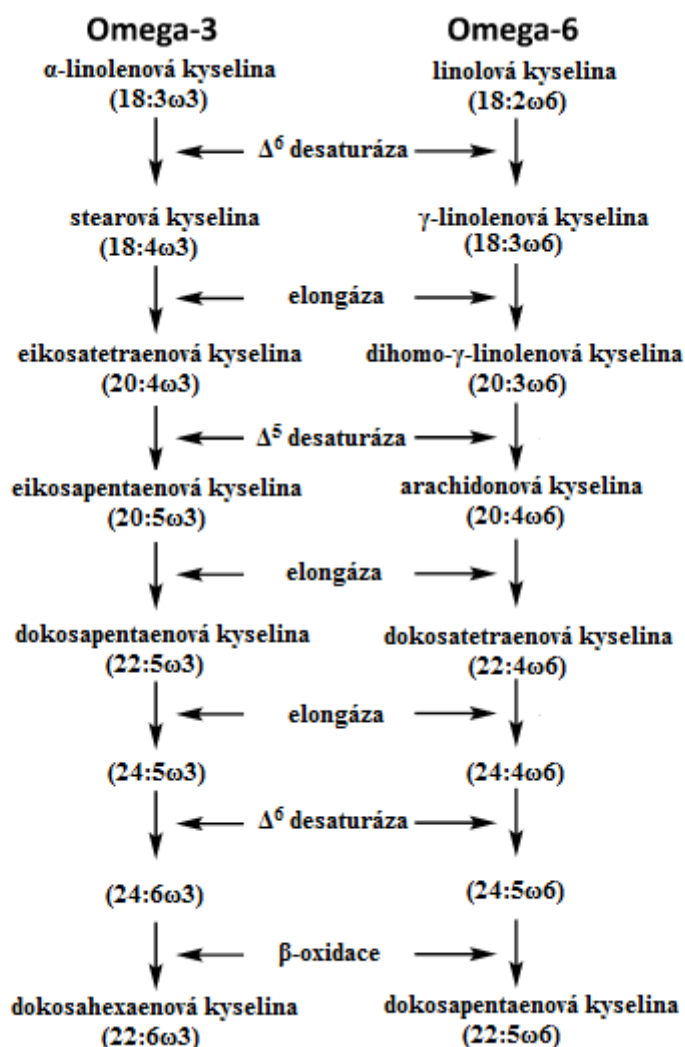
Existují dvě hlavní skupiny biologicky důležitých polynenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem, a to ω -3 a ω -6 (Michalak et al., 2016). Numerický index v označení ω -3 a ω -6 značí polohu dvojně vazby, která je nejvzdálenější od karboxylové skupiny, přičemž uhlíky jsou počítány od methylového uhlíku (Michalak et al., 2016). Mezi hlavní zástupce ω -3 kyselin patří kyselina dokosahexaenová (22:6 ω 3), α -linolenová (18:3 ω 3) a eikosapentaenová (20:4 ω 3), jejichž společným znakem je dvojná vazba na uhlíku C₃. Kyselina linolová (18:2 ω 6), γ -linolenová (18:3 ω 6) a arachidonová (20:4 ω 6) patří mezi hlavní zástupce ω -6 kyselin, jejichž společnou vlastností je přítomnost dvojně vazby na uhlíku C₆ (Le et al., 2009).

Polynenasycené mastné kyseliny jsou zodpovědné za udržení tekutosti buněčné membrány, snižují sekreci prozánětlivých cytokinů, zlepšují funkci cévního endotelu, inhibují agregaci trombocytů a snižují syntézu triacylglycerolu v játrech (Wiktorowska-Owczarek et al., 2015). Jedná se o bioaktivní lipidy, které regulují imunitní reakci a průběh zánětu (Michalak et al., 2016). Zapojují se do regulace fyziologických funkcí mozku a podílejí se na syntéze a funkci mozkových neurotransmiterů. Bylo zjištěno, že nedostatek esenciálních mastných kyselin v kojeneckém věku zpomaluje vývoj mozku (Yehuda et al., 2005).

Biosyntéza mastných kyselin vyžaduje zapojení tří enzymů, a to Δ^5 desaturázy, Δ^6 desaturázy a elongázy. Enzymy Δ^5 a Δ^6 desaturázy katalyzují reakce vedoucí k vytvoření dvojných vazeb, zatímco elongáza katalyzuje reakce vedoucí k prodloužení uhlovodíkového řetězce. Jak Δ^5 a Δ^6 desaturáza, tak i elongáza se vyskytují v endoplazmatickém retikulu buněk (Wiktorowska-Owczarek et al., 2015). Biosyntéza (obr. 1) je založena na převedení kyseliny linolové za účasti enzymu Δ^6 desaturázy na γ -linolenovou kyselinu. Dochází k vytvoření dvojně vazby mezi uhlíkem C₆ a C₇. Následně působení enzymu elongázy katalyzuje připojení dvou uhlíků ke kyselině γ -linolenové a vzniká meziprodukt dihomu- γ -linolenová kyselina, která je prekurzorem prostaglandinů 1. série (Das, 2006; Le et al., 2009). Malá část meziproduktu je metabolizována enzymem Δ^5 desaturázou na kyselinu arachidonovou, která slouží jako prekurzor prostaglandinů 2. série (prostaglandin E₂ a I₂), leukotrienů 4. série (leukotrien B₄, C₄

a E₄) a tromboxanu A₂. Kyselina α -linolenová je za účasti Δ^5 a Δ^6 desaturázy přeměněna na kyselinu eikosapentaenovou, následně je využita jako prekurzor prostaglandinů 3. série (prostaglandin E₃ a I₃), tromboxanu A₃ a leukotrienů 5. série (leukotrien B₃, C₃ a E₅) (Das, 2006; Le et al., 2009).

Kyselina linolová je nejčastěji obsažena v obilovinách, vejcích, drůbeži, většině rostlinných olejů, celozrnném pečivu a margarínu. Kyselina α -linolenová je součástí řepkového nebo lněného oleje, vlašských ořechů a listové zeleniny. Zdrojem kyseliny γ -linolenové a dihomo- γ -linolenové jsou rostlinné oleje, zatímco pro kojence je hlavním zdrojem těchto dvou kyselin mateřské mléko (Das, 2006).



Obrázek 1 Biosyntéza ω -3 a ω -6 mastných kyselin (upraveno dle Le et al., 2009)

2 KYSELINA ARACHIDONOVÁ

Kyselina arachidonová (AA), neboli kyselina 5, 8, 11, 14-eikosatetraenová, se řadí do skupiny ω -6 mastných kyselin. Může být přijímána potravou nebo syntetizována z kyseliny linolové prostřednictvím několika po sobě následujících reakcí, které jsou postupně katalyzovány enzymy Δ^6 desaturázou, elongázou a Δ^5 desaturázou (Astudillo et al., 2012). Velké množství AA je součástí membrán savčích buněk a tkání (Calder, 2007).

AA je společným prekurzorem leukotrienů, prostaglandinů a tromboxanů, souhrnně nazývaných jako eikosanoidy, které mají důležitou roli ve fyziologii a patofyziologii především zánětlivých reakcí (Astudillo et al., 2012; Hadley et al., 2016). Volná AA má silný trombocytárně agregační účinek a vyvolává zánětlivou odpověď (Calder, 2007). Slouží jako prekurzor hlavních mediátorů zánětu (prostaglandinu E_2 a leukotrienu B_4). Podílí se na hormonální regulaci, metabolismu minerálů a tvorbě kostí během vývoje dítěte. Spolu s kyselinou dokosahexaenovou jsou nezbytné pro správný vývoj kojence. Významné jsou také pro vývoj sítnice a růst mozku, kde hrají důležitou roli při buněčném dělení a signalizaci. Tvoří hlavní složku buněčných membrán neuronů (Hadley et al., 2016). Bylo prokázáno, že doplňování stravy o zdroje AA zabraňuje epidermálním ztrátám vody. Přijatá AA je zpětně přeměněna na kyselinu linolovou, která je začleněna do fosfolipidů membrán epidermálních buněk a v této podobě reguluje permeabilitu pokožky. Jediná ω -6 mastná kyselina přijímaná potravou, která může nahradit kyselinu linolovou, je právě AA (Le et al., 2009).

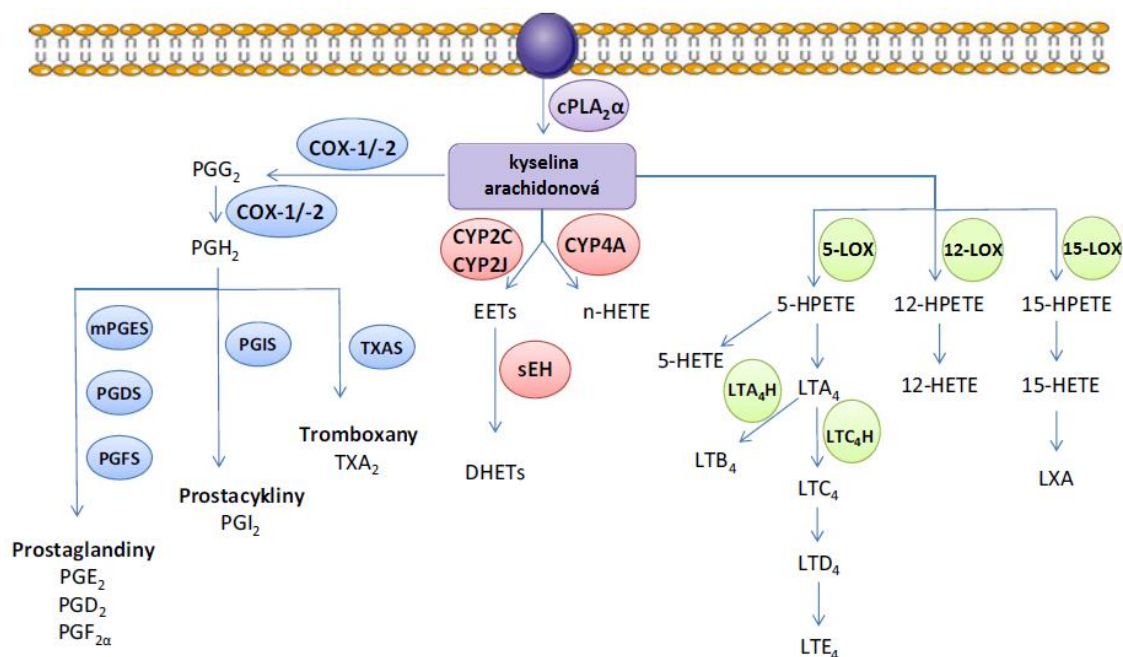
Denní příjem AA je 0,2 až 0,3 g, zatímco denní příjem kyseliny linolové činí asi 10 až 20 g, z čehož vyplývá, že množství syntetizované AA převyšuje množství AA přijaté potravou (Astudillo et al., 2012). Důležitými potravinovými zdroji obsahujícími již vytvořenou AA jsou vejce, ryby a maso. Podstatné množství je obsaženo také v mateřském mléce, které má pozitivní vliv na růst a vývoj kojence (Calder, 2007). Nedostatek má za následek zhoršení energetického metabolismu, problémy ve struktuře buněčné membrány a poruchy lipidové signální dráhy (Hadley et al., 2016).

3 EIKOSANOIDY

Eikosanoidy jsou deriváty AA zahrnující prostaglandiny, leukotrieny a tromboxany (Hammond et al., 2012). Patří do skupiny lipidových mediátorů, které regulují široké spektrum fyziologických reakcí a patologických procesů (Harizi et al., 2008). Regulují funkci ledvin, kardiovaskulárního a gastrointestinálního systému (Hammond et al., 2012). Mnoho důležitých aspektů imunity, jako například produkce cytokinů, tvorba protilátek, proliferace buněk a prezentace antigenů, je regulováno prostřednictvím eikosanoidů. Původně byly eikosanoidy známy jako mediátory, které jsou schopny regulovat cévní homeostázu, podílejí se na ochraně žaludeční sliznice a mají schopnost shlukovat trombocyty. Nyní jsou eikosanoidy chápány také jako látky schopné regulovat imunopatologické procesy v rozmezí od zánětlivých reakcí, až po chronickou remodelaci tkáně, rakovinu, revmatoidní artritidu nebo autoimunitní poruchy. Eikosanoidy jsou odlišnými enzymatickými cestami produkovány různými druhy buněk. Mezi hlavní producenty eikosanoidů patří buňky vrozeného imunitního systému (tkáňové makrofágy a neutrofily). Výsledný účinek eikosanoidů je spojen s aktivací jaderných receptorů nebo specifických receptorů cytoplazmatické membrány cílových buněk (Harizi et al., 2008).

3.1 Syntéza eikosanoidů

Výchozí látkou pro syntézu eikosanoidů je AA. Prvním krokem syntézy eikosanoidů (obr. 2) je uvolnění AA z buněčné membrány. Aby byla AA uvolněna, musí dojít k hydrolýze glycerolfosfolipidů, které jsou součástí buněčné membrány a ovlivňují její funkce. Takovouto hydrolýzu katalyzuje fosfolipáza A₂ (PLA₂) spolu s Ca²⁺ ionty a adenosintrifosfátem (ATP), jako kofaktory této reakce (Szeffel, 2015). PLA₂ je lipolytický enzym umožňující uvolnění nejen AA, ale i jiných polynenasycených mastných kyselin pro syntézu eikosanoidů. Fosfolipázy mají velké množství izoform, přičemž PLA₂ je považována za hlavní enzym zprostředkovávající uvolnění AA (Nicolaou, 2013). Produktem reakce je uvolněná AA, která může být následně metabolizována třemi různými cestami, při kterých dochází k syntéze eikosanoidů působících autokrinně nebo parakrinně na cílové buňky (Meirer et al., 2014). Cesty syntézy mohou být katalyzovány lipoxygenázami, cyklooxygenázami nebo cytochromem P450 (Hammond et al., 2012). Biosyntéza eikosanoidů závisí na produkci a distribuci specifických prekurzorů a enzymů v daných buňkách (Harizi et al., 2008).



Obrázek 2 Syntéza eikosanoidů (upraveno dle Meirer et al., 2014)

3.1.1 Lipoxygenázová cesta

Lipoxygenázy katalyzují oxygenaci polyneenasycených mastných kyselin, obsahujících alespoň jeden 1, 4-pentadienový systém, na odpovídající hydroperoxy deriváty. Jsou klasifikovány na základě polohy kyslíku v arachidonátovém substrátu (Hammond et al., 2012). Lipoxygenázy působí v lidském organismu ve třech formách, a to jako 5-lipoxygenáza, 12-lipoxygenáza a 15-lipoxygenáza (Meirer et al., 2014). 12-lipoxygenáza je součástí lidských trombocytů, 15-lipoxygenáza se nachází v lidských monocytech a 5-lipoxygenáza v lidských neutrofilech (Hammond et al., 2012). Mezi hlavní eikosanoidy syntetizované lipoxygenázovou cestou řadíme hydroxyeikosatetraenové kyseliny (HETEs), leukotrieny a lipoxiny (Luo et al., 2011). Primárním produktem oxidace zprostředkované lipoxygenázami je nestabilní hydroperoxid, který je následnou reakcí, katalyzovanou glutathion peroxidázou, rychle redukován na odpovídající hydroxid. V případě trombocytární 12-lipoxygenázy je hydroperoxid, 12S-hydroperoxyeikosatetraenová kyselina, redukován na 12S-hydroxyeikosatetraenovou kyselinu (Hammond et al., 2012).

Účast lipoxygenáz při reakcích vede ke vzniku hydroperoxyeikosatetraenových kyselin (HPETEs). Jedná se o meziprodukty, které jsou rychle redukovány na příslušné HETEs (Luo et al., 2011). HETEs mohou být oxidovány za vzniku svých keto derivátů, kyselin ketoeikosatetraenových, obvykle prostřednictvím enzymu 5-hydroxyeikosanoid dehydrogenázy nebo 15-prostaglandin dehydrogenázy (Hammond et al., 2012).

Současné působení 5-lipoxygenázy a 12-lipoxygenázy nebo 15-lipoxygenázy vede ke vzniku lipoxinů, které se podílejí na řízení zánětu (Meirer et al., 2014). Syntéza lipoxinů je závislá na reakci katalyzované lipoxygenázami (Harizi et al., 2008).

5-lipoxygenáza je klíčový enzym katalyzující dva kroky biosyntézy leukotrienů, současně za působení kofaktorů Ca^{2+} iontů a ATP (Meirer et al., 2014). Je aktivována prostřednictvím 5-lipoxygenázového aktivačního proteinu (Nicolaou, 2013). 5-lipoxygenáza metabolizuje AA na 5-HPETE, která je prekurzorem pro syntézu leukotrienu A_4 (Luo et al., 2011). Poté katalyzuje oxidaci 5-HPETE vedoucí ke vzniku leukotrienu A_4 . Leukotrien A_4 následně podléhá reakci, při které vzniká odpovídající diol. Reakce je katalyzována enzymem leukotrien- A_4 hydrolázou a vede ke vzniku leukotrienu B_4 (Luo et al., 2011; Meirer et al., 2014). Další možností je konjugace leukotrienu A_4 s glutationem. Tato reakce je katalyzována enzymem leukotrien- C_4 syntázou a vede ke vzniku leukotrienu C_4 , který může být metabolizován na leukotrien D_4 nebo leukotrien E_4 (Meirer et al., 2014). Zároveň může leukotrien A_4 pomocí transcelulárního metabolismu přispívat k syntéze lipoxinů (Nicolaou, 2013).

3.1.1.1 Leukotrieny

Leukotrieny jsou lipidové mediátory ovlivňující vrozenou imunitní reakci prostřednictvím regulace buněk a adaptace imunitního systému (Meirer et al., 2014; Rådmark et al., 2015). Hrají důležitou roli při chronických zánětlivých onemocněních, jako je astma a ateroskleróza (Meirer et al., 2014). Díky působkům zvyšujícím produkci prozánětlivých cytokinů, mají prozánětlivý účinek. Patří mezi faktory ovlivňující vznik onemocnění kardiovaskulárního systému a ledvin (Luo et al., 2011). Byly studovány v souvislosti s rozvojem plicní arteriální hypertenze (Rådmark et al., 2015). Mohou přispívat ke vzniku kožních zánětů a alergií (Nicolaou, 2013). Primárně jsou syntetizovány prostřednictvím eozinofilů, neutrofilů, monocytů nebo makrofágů. Vzhledem k jejich poměrně krátkému poločasu rozpadu, působí v blízkosti místa jejich syntézy (Luo et al., 2011). Jedná se tedy o parakrinní mediátory (Meirer et al., 2014).

Funkce leukotrienů je zprostředkována prostřednictvím receptorů spřažených s G proteiny (CysLT1, CysLT2, BLT1 a BLT2 receptory). Cysteinylové receptory se podílejí na vzniku alergické reakce a působí na stažlivost hladkého svalstva dýchacích cest vedoucí k bronchokonstrikci. Leukotrien B_4 působí jako chemotaktická látka pro zánětlivé buňky, jako jsou neutrofilů, makrofágy a eozinofily (Meirer et al., 2014).

3.1.1.2 Lipoxiny

Lipoxiny jsou eikosanoidy syntetizované postupným sledem reakcí katalyzovaných lipoxygenázami. Hlavní cesta syntézy zahrnuje společné působení 12-lipoxygenázy a 5-lipoxygenázy. Dřívější studie ukázaly, že lipoxiny stimulují sekreci prostacyklinu v endoteliálních buňkách. Lipoxiny vykazují vasodilatační účinky, což naznačuje, že mají vliv na regulaci vaskulárního tonu (Romano, 2010). Jsou silnými stimulatory monocytů v periferní krvi (Ryan et al., 2010). Lipoxin A₂ má klíčovou roli při homeostáze dýchacích cest i cévní homeostáze a podporuje obnovu epitelu dýchacích cest. Studie ukázaly, že lipoxin A₄ vykazuje bronchodilatační a protizánětlivé účinky (Romano, 2010).

3.1.2 Cesta cytochromu P450

Cytochromy P450 (CYPs) jsou membránově vázané, hem obsahující enzymy, které jsou schopny katalyzovat redoxní aktivaci molekulárního kyslíku a dodávání aktivní formy atomárního kyslíku substrátu (Hammond et al., 2012; Meirer et al., 2014). Tyto enzymy jsou široce distribuovány v rostlinných, hmyzích a živočišných tkáních (Hammond et al., 2012). V lidském organismu se nacházejí v játrech, mozku, ledvinách, plicích a kardiovaskulárním systému (Meirer et al., 2014). Katalyzují štěpení molekulárního kyslíku, které je následováno navázáním jednoho atomárního kyslíku na substrát, zatímco druhý atomární kyslík je vyloučen ve formě molekuly vody. Katalytický obrat vyžaduje přenos elektronu z nikotinamidadeninukleotidfosfátu (NADPH) na železo hemu, obsažené v CYP. Reakce je katalyzována membránově vázaným flavoproteinem, NADPH-CYP reduktázou (Hammond et al., 2012).

Hlavními eikosanoidy syntetizovanými cestou CYP jsou HETEs a epoxyeikosatetraenové kyseliny (EETs) (Nicolaou, 2013). Existují různé druhy izomerů CYP, jako CYP1A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2J, 4A nebo 4F (Luo et al., 2011). Oxygenázová dráha převádí AA pomocí CYP4A na HETEs, jako například 20-HETE, zatímco epoxygenázová dráha katalyzuje syntézu čtyř EETs (5,6-, 8,9-, 11,12-, 14,15-EET) prostřednictvím CYP2C a CYP2J (Meirer et al., 2014). Produkty cesty CYP hrají důležitou roli v regulaci kardiovaskulárního systému. HETEs a EETs se podílejí na regulaci cévního tonu. V ledvinných tubulech jsou důležitými mediátory, které inhibují transport sodíku v proximálních tubulech, tlustých vzestupných raménkách a sběrných kanálcích. V současné době je ovlivňování cesty CYP využíváno k léčbě hypertenze a cévní mozkové příhody (Luo et al., 2011).

3.1.2.1 Hydroxyeikosatetraenové kyseliny

Hlavními zástupci syntetizovanými cestou CYP jsou HETEs (například 16-, 17-, 18-, 19-, 20-HETE). 20-HETE patří mezi hlavní metabolity nacházející se v cévách a ledvinách. Její syntéza je katalyzována enzymem CYP4A a CYP4F. 20-HETE vykazuje vasokonstrikční účinek v ledvinách a mozkové mikrocirkulaci (Luo et al., 2011). Umožňuje regulaci cévního tonu a krevního tlaku v závislosti na místě její syntézy a působení. V cévách zvyšuje schopnost reagovat na podněty navozující stažení cévy, jako je intraluminální tlak, kyslík, fenylefrin a endotelin. Biosyntéza 20-HETE je primárně vztažena na proximální tubulus a tlusté vzestupné raménko nefronu (Sodhi et al., 2010).

3.1.2.2 Epoxyeikosatetraenové kyseliny

Předpokládá se, že EETs představují autokrinní a parakrinní lipidové mediátory, jejichž funkce je umožněna prostřednictvím receptorů spřažených s G proteiny. Většina funkcí je zapříčiněna navázáním ligandu na receptor, následnou aktivací iontových kanálů a spuštěním vnitrobuněčné signalizace (Meirer et al., 2014). Syntéza EETs je méně specifická, může být katalyzována CYP1A, 2B, 2C, 2D, 2E nebo 2J. Mezi hlavní enzymy pro syntézu EETs patří CYP2C a CYP2J (Luo et al., 2011).

Díky schopnosti inhibovat kinázy a tumor nekrotizující faktor, mají EETs protizánětlivý účinek. Zmírňují shlukování trombocytů a tím udržují cévní homeostázu. Projevují antihypertenzní účinek a mají prospěšný vliv při onemocněních souvisejících s kardiovaskulárními nemocemi, cukrovkou a bolestí při zánětu (Meirer et al., 2014).

EETs jsou snadno hydrolyzovány rozpustnou hydrolázou epoxidu na odpovídající dihydroxyeikosatetraenové kyseliny, které jsou obecně méně biologicky aktivní než EETs. Inhibitory rozpustné hydrolázy epoxidu byly použity ke sledování fyziologických funkcí a prospěšnosti EETs pro kardiovaskulární systém. Následně byl prokázán pozitivní účinek těchto inhibitorů na kardiovaskulární systém (Luo et al., 2011).

3.1.3 Cyklooxygenázová cesta

Hlavní eikosanoidy vznikající cyklooxygenázovou cestou jsou prostaglandiny a tromboxany (Luo et al., 2011). Cyklooxygenázy, taktéž prostaglandin H syntázy, jsou membránové enzymy katalyzující syntézu eikosanoidů (Hammond et al., 2012; Chen et al., 2013). Vyskytují se ve dvou izoformách jako cyklooxygenáza 1 (COX-1) a cyklooxygenáza 2 (COX-2). COX-1 je produkována ve většině tkání a odpovídá za základní produkci prostanoidů potřebnou k regulaci homeostázy. Podílí se na cytoprotekci žaludečního epitelu a regulaci

krevního průtoku ledvinami (Chen et al., 2013). Zatímco produkce COX-2 je závislá na stimulaci zánětlivými faktory, které jsou uvolňovány při zánětlivých procesech (Luo et al., 2011).

Cyklooxygenázy katalyzují první dva kroky enzymatické syntézy eikosanoidů (Luo et al., 2011). Cestou oxygenázové reakce transformují AA na nestabilní prostaglandin G_2 (PGG_2), který je prekurzorem pro syntézu prostaglandinu H_2 (PGH_2). Následuje peroxidázová reakce, která vede k přeměně PGG_2 na stabilnější PGH_2 . Z tohoto důvodu se cyklooxygenázy nazývají také prostaglandin H syntázy (Meirer et al., 2014). Syntetizovaný PGH_2 následně podléhá reakcím katalyzovaným specifickými syntázami za vzniku prostaglandinu D_2 (PGD_2), E_2 (PGE_2), $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), prostacyklinu I_2 (PGI_2) a tromboxanu A_2 (TXA_2) (Hammond et al., 2012). Příkladem syntáz je prostaglandin D syntáza, prostaglandin F syntáza, prostaglandin E syntáza, prostaglandin I syntáza nebo tromboxan A syntáza, jejichž účast při reakci vede ke vzniku příslušného eikosanoidu. Produkty vzniklé výše zmíněnými reakcemi se nazývají prostanoidy (Meirer et al., 2014).

3.1.3.1 Prostanoidy obecně

Prostanoidy zahrnují prostaglandiny a tromboxany (Yuhki et al., 2011). Jedná se o lipidové mediátory, které jsou z buněk uvolňovány ihned po syntéze (Meirer et al., 2014; Yuhki et al., 2011). Na cílové buňky působí pomocí receptorů spřažených s G proteinem, které jsou exprimovány na cílových buňkách (Meirer et al., 2014; Yuhki et al., 2011). Existují čtyři druhy receptorů pro PGE_2 (receptory EP1, EP2, EP3, EP4), dva pro PGD_2 (receptory DP1, DP2), jeden pro PGI_2 (receptor IP), jeden pro $PGF_{2\alpha}$ (receptor FP) a jeden pro TXA_2 (receptor TP). Po navázání ligandu na receptor dochází k aktivaci signálních drah zprostředkovaných řadou biologických funkcí. Aktivace receptorů DP1, EP2, EP4 a IP vyvolává nárůst intracelulárního cyklického adenosin-3', 5'-monofosfátu (cAMP), zatímco aktivace receptorů EP1, FP a TP indukuje mobilizaci vápníku. Aktivace EP3 receptoru může vést k mobilizaci vápníku, snížení produkce cAMP nebo zvýšení produkce cAMP. Aktivace DP2 receptoru inhibuje syntézu cAMP a zvyšuje intracelulární vápník. Rozdíly v koncentracích ligandů mohou mít za následek různé odpovědi cílových buněk na ligandem indukovanou aktivaci těchto receptorů spřažených s G proteinem (Chen et al., 2013).

3.1.3.2 Tromboxany

TXA_2 , prostanoid patřící do skupiny tromboxanů, se oproti prostaglandinům ve své struktuře liší přítomností oxanového kruhu namísto cyklopentanového (Yuhki et al., 2011). Je

tvořen zejména trombocyty, ale může být produkován i jinými typy buněk, například makrofágy. Aktivace TP receptorů zprostředkovává řadu fyziologických a patologických reakcí, jako adhezi a agregaci trombocytů, kontrakci hladkého svalstva a aktivaci endotelové zánětlivé reakce (Ricciotti et al., 2011). TXA_2 má silný vasokonstrikční účinek a stimuluje agregaci trombocytů, naproti tomu PGI_2 má silný vasodilatační účinek a působí proti agregaci trombocytů. To znamená, že rovnováha mezi PGI_2 a TXA_2 v cirkulaci je důležitá pro kardiovaskulární homeostázu (Luo et al., 2011).

3.1.3.3 Prostaglandiny

Prostaglandiny obsahují cyklopentanový kruh se dvěma postranními řetězci. Jedná se o postranní řetězec α , který nese koncovou karboxylovou skupinu, a řetězec ω . V závislosti na změně cyklopentanového kruhu jsou fyziologicky důležité prostaglandiny klasifikovány do čtyř typů: PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ a PGI_2 . Většina prostaglandinů je chemicky stabilní, až na PGI_2 , který je chemicky nestabilní a za fyziologických podmínek se degraduje na inaktivní produkty během 30 sekund až několika minut (Yuhki et al., 2011).

PGE_2 je jedním z nejrozšířenějších prostaglandinů. Za fyziologických podmínek je důležitým mediátorem mnoha biologických procesů, jako je regulace imunitní reakce, krevního tlaku, erekce, ejakulace, fertilizace nebo ovulace (Miller, 2006; Ricciotti et al., 2011). Je hlavním regulátorem resorpce sodíku v distálních tubulech ledvin (Ricciotti et al., 2011). Má vasodilatační funkci, která vede ke zvýšení glomerulární filtrace zapříčiněné zvýšeným průtokem krve ledvinami (Luo et al., 2011). Porucha syntézy PGE_2 je spojena s celou řadou patologických stavů (Ricciotti et al., 2011). Je považován za hlavní prozánětlivý prostanoid a přispívá ke zvýšenému vnímání bolesti modulací nociceptivních drah (Chen et al., 2013). V průběhu zánětu je zapojen do všech procesů vedoucích ke vzniku klasických známek zánětu, jako je zarudnutí, otok a bolest (Ricciotti et al., 2011).

PGI_2 je jedním z nejdůležitějších prostanoidů regulujících kardiovaskulární homeostázu (Ricciotti et al., 2011). Jak už bylo zmíněno, má silný vasodilatační účinek a inhibuje shlukování trombocytů (Luo et al., 2011). Hlavním zdrojem PGI_2 jsou cévní buňky, buňky hladkého svalstva cév a endotelové progenitorové buňky (Ricciotti et al., 2011).

PGD_2 je hlavní eikosanoid, který je syntetizován v centrálním nervovém systému a periferních tkáních. V mozku se podílí na regulaci spánku a dalších činnostech centrálního nervového systému, které zahrnují například vnímání bolesti (Ricciotti et al., 2011). Díky vasodilatačnímu účinku zvyšuje průtok krve ledvinami (Luo et al., 2011).

V ženském reprodukčním systému má důležitou funkci $\text{PGF}_{2\alpha}$, který se podílí na regulaci ovulace, kontrakce hladkého svalstva dělohy a zahájení porodu. Bylo zjištěno, že $\text{PGF}_{2\alpha}$ hraje významnou roli při kontrakci cév, dysfunkci myokardu, renální funkci a bolesti (Ricciotti et al., 2011).

4 HISTORIE OBJEVU PROSTAGLANDINŮ

První objev spjatý s možnou biologickou aktivitou tkáně prostatické žlázy je datován roku 1906, kdy dva italští vědci intravenózně aplikovali extrakt ze psí prostaty králíkům a psům. Aplikace extraktu měla za následek rozvoj reakcí naznačující vysoký stupeň toxicity vedoucí až k paralyzujícím účinkům na dýchací soustavu (Baskett et al., 2003). Ve třicátých letech minulého století dva gynekologové z New Yorku, Raphael Kurzrok a Charles Lieb, zjistili, že mužské sperma způsobuje kontrakci a relaxaci ženského myometria (Zipser et al., 1985). V závislosti na tomto zjištění prováděli pokusy na prouzcích děložního svalstva, na které aplikovali sperma. V některých případech došlo ke kontrakci, v jiných k relaxaci. Domnívali se, že u pacientek, u nichž se v reakci na sperma děloha uvolní, je těhotenství pravděpodobnější. Navrhli, že by se mohlo jednat o potenciální test plodnosti (Baskett et al., 2003).

V roce 1930 von Euler v rámci své postgraduální práce působil v laboratoři, která byla zaměřena na studium přirozeně se vyskytujících biologicky aktivních sloučenin, jako jsou neurotransmitery, biogenní aminy nebo tkáňové hormony. Měl za úkol zkoumat přítomnost acetylcholinu ve střevech zvířat, ale namísto toho objevil látky nové. V rámci své práce analyzoval různé druhy orgánů, včetně pohlavních. Zkoumal psí prostatu a širokou škálu pohlavních orgánů různých zvířat. Následně se rozhodl použít lidskou semennou tekutinu, kterou aplikoval králíkovi. Účinek látky byl i přes její malé množství obrovský. Krevní tlak králíka klesl na velmi nízké hodnoty (Euler, 1981). Objev prostaglandinů, jakožto skupiny biologicky významných látek, vyskytujících se v lidské semenné tekutině a vezikulárních žlázách ovcí se datuje do roku 1933 (Bagli et al., 1966).

V roce 1935 von Euler jako první použil pojem prostaglandiny. Nazval tak látky, které byly extrahovány z ovčí prostaty a stimulovaly hladké svalstvo různých orgánů (Gryglewski, 2008). Mezi nejdůležitější účinky těchto látek patřila kontrakce střeva a dělohy, vasodilatace a v některých případech i vasokonstrikce (Euler, 1983). Název prostaglandiny použil v představě, že jejich zdrojem je prostata (Zipser et al., 1985). Velké množství prostaglandinů bylo nalezeno ve vezikulárních žlázách a spermatu člověka, opic, ovcí i koz. Mimo to byla jejich aktivita prokázána také v prasečích vaječnicích (Euler, 1983). Nezávisle na von Eulerovi popsal velmi podobnou reakci anglický vědec Goldblatt. V jeho případě se jednalo o zjištění, že ovčí vezikulární žlázy obsahují poměrně velké množství látky, která se zdála být stejná nebo velmi podobná látce nalezené von Eulerem (Euler, 1981). Posléze byly prostaglandiny identifikovány spíše jako skupina látek, než jako látka samotná (Zipser et al., 1985).

V roce 1940 von Euler spolu s Bergströmem objevili jeden z prostaglandinů v jeho čisté formě. V průběhu dalších let byl Bergströmem a van Droppem identifikován prekurzor prostaglandinů, jakožto AA (Euler, 1983). Brzy na to bylo zjištěno, že prostaglandiny jsou produkovány téměř většinou živočišných tkání. Široké farmakologické účinky těchto sloučenin byly prokázány na kontrakci hladkého svalstva, sekreci buněk a agregaci trombocytů, přičemž prostaglandiny fungovaly jako lokální mediátory (Zipser et al., 1985).

V letech 1950 až 1960 Bergström a jeho kolegové prováděli výzkum za účelem identifikace členů skupiny prostaglandinů (Baskett et al., 2003). V roce 1960 Bergström izoloval z biologického materiálu cyklické lipidy. Následně byly zjištěny jejich chemické struktury a byly pojmenovány jako prostaglandiny řady E₂ a F₂. Označení E a F značilo lepší rozpustnost v ethyletheru nebo ve fosfátovém pufru, zatímco numerický index vyjadřoval počet dvojných vazeb v jejich struktuře (Gryglewski, 2008). V roce 1960 Bergström izoloval z ovčí vezikulární žlázy vysoce účinnou katalytickou látku, prostaglandin E₁. Následné studie ukázaly, že PGE₂ a PGE₃, jakožto dvě příbuzné látky lišící se počtem dvojných vazeb, jsou přítomny v ovčí prostatě. PGE₁ byl prokázán v telecím brzlíku, zatímco PGF_{2α} byl izolován z ovčí duhovky, plic prasat a ovcí. Díky hmotnostní spektrometrii byl později objeven biologicky neaktivní PGA₂, PGB₂, PGC₂ a biologicky aktivní PGD₂ a PGJ₂ (Gryglewski, 2008).

Z důvodu velkého obsahu prostaglandinů právě ve spermatu se začalo usuzovat, že jejich úloha je primárně spjata se sexuálními funkcemi. Diskutovalo se o možnosti usnadnění průchodu spermií pohlavním ústrojím díky navození relaxace dělohy (Steinberg et al., 1964). V roce 1968 Karim vyvolal porod prostřednictvím intravenózní aplikace PGF_{2α}. Ve stejném roce Bygdeman a jeho kolegové zveřejnili výsledky podání intravenózní infuze PGE₁ a PGE₂, taktéž za účelem vyvolání porodu. Intravenózně podávané prostaglandiny nevykazovaly žádnou výhodu oproti oxytocinu, naopak vedly k rozvoji gastrointestinálních nežádoucích účinků (Baskett et al., 2003).

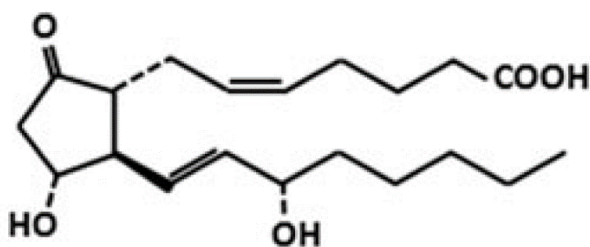
V roce 1971 došlo k velkému nárůstu publikací v tomto směru, především díky objevu Vanea a jeho kolegů z Anglie, kteří zjistili, že aspirin, indomethacin a jiné nesteroidní protizánětlivé léky inhibují syntézu prostaglandinů. Další důležitá informace se objevila roku 1976, kdy Moncada, Vane a jejich spolupracovníci identifikovali antiagregační a vasodilatační účinky PGI₂. V roce 1982 získal Sune Bergström, Bengt Samuelsson a John Vane Nobelovu cenu za fyziologii, za přínos v oblasti prostaglandinů. Tato oblast je neustále rozšiřována o nové

poznatky týkající se metabolitů kyseliny arachidonové, jejich inhibitorů a role těchto mediátorů ve fyziologických i patologických procesech lidského organismu (Zipser et al., 1985).

5 PROSTAGLANDIN E₂

5.1 Chemická struktura

PGE₂ je dvacetí uhlíkatá nenasycená karboxylová kyselina obsahující ve své chemické struktuře (obr. 3) cyklopentanový kruh a dva postranní řetězce α a β (Stehle, 1982; Legler et al., 2010). Řetězec α je složen z uhlíků C₁ až C₇, přičemž mezi uhlíky C₅ a C₆ je přítomná dvojná vazba. Na konci řetězce α je umístěna karboxylová skupina. Řetězec β obsahuje uhlíky C₁₃ až C₂₀, mezi nimiž se taktéž nachází dvojná vazba, a to mezi uhlíky C₁₃ a C₁₄. Řetězec β je zakončen methylovou skupinou. Tyto dva postranní řetězce jsou přizpůsobeny hydrofobním interakcím. PGE₂ ve své struktuře dále obsahuje dvě hydroxylové skupiny, první je připojena na pozici uhlíku C₁₁ cyklopentanového kruhu, zatímco druhá je umístěna na uhlíku C₁₅ v β řetězci (Stehle, 1982; Markovič et al., 2017). Molekulární konfigurace krystalického PGE₂ byla stanovena pomocí rentgenové difrakční analýzy (Stehle, 1982). Systematický název PGE₂ je 7-[3-hydroxy-2-(3-hydroxyoct-1-enyl)-5-oxocyklopentyl]hept-5-enová kyselina, také známá jako dinoproston. Molekulová hmotnost PGE₂ je 352,465 g/mol. Ve zkratce PGE₂ značí písmeno E rozpustnost v ethyletheru a numerický index vyjadřuje počet dvojných vazeb (Gryglewski, 2008; Legler et al., 2010). PGE₂ se řadí mezi prostaglandiny 2. série (Legler et al., 2010).



Obrázek 3 Vzorec prostaglandinu E₂ (Duffy, 2015)

5.2 Syntéza

PGE₂ je lipidový mediátor syntetizovaný z AA prostřednictvím cyklooxygenázové cesty. K uvolnění AA z membrány buněk dochází hydrolytickým působením PLA₂ (Murakami et al., 2004). Existuje patnáct izoform PLA₂ zapojujících se do hydrolýzy membránových fosfolipidů vedoucí k uvolnění mastných kyselin (Gomez et al., 2013). Jejich účast při reakci katalyzuje odštěpení acylu z fosfolipidu, a to v poloze dva. Fosfolipázy jsou členěny do tří skupin, sekretované PLA₂ (sPLA₂), intracelulární PLA₂ nezávislé na vápníku patřící do skupiny

VI (GVI iPLA₂) a cytosolové PLA₂ patřící do skupiny IV (GIV cPLA₂) (Park et al., 2006). Zástupci všech skupin mají schopnost uvolňovat AA z buněčné membrány, ale cPLA₂ má největší selektivitu k uvolňování této kyseliny právě pro syntézu eikosanoidů (Gomez et al., 2013; Park et al., 2006). Cytosolová PLA₂ se vyskytuje ve většině buněk a tkání. Její přesun z cytosolu do Golgiho aparátu, endoplazmatického retikula a jaderného obalu je regulován koncentrací intracelulárního vápníku. Při zvýšení koncentrace intracelulárního vápníku dochází k navázání vápníku na N-koncovou C₂ doménu. Vazba vápníku umožní interakci cPLA₂ s AA a její následné uvolnění (Park et al., 2006).

Takto uvolněná AA je oxygenována prostřednictvím cyklooxygenázy na PGG₂ a dále na nestabilní PGH₂ (Park et al., 2006). Nejhojnější výskyt cyklooxygenáz je v endoplazmatickém retikulu buněk produkujících prostanoidy. Hlavní kroky působení cyklooxygenázy jsou cyklizace AA a připojení 15-hydroperoxy skupiny za vzniku PGG₂. Následuje redukce vzniklé hydroperoxy skupiny PGG₂ vedoucí ke vzniku hydroxylovaného produktu, PGH₂. Existují dvě izoformy cyklooxygenáz, COX-1 a COX-2. Obě izoformy katalyzují dvě sekvenční enzymatické reakce, a to oxygenaci a redukci AA. Krystalové struktury COX-1 a COX-2 jsou téměř totožné. Každý izoenzym obsahuje tři hlavní části, N-koncový epidermální růstový faktor (EGF) domény, spirálovou membránově vázanou doménu a velkou katalytickou doménu na C-konci. Membránově vázaná doména obsahuje čtyři helixy obklopující otvor, kterým AA vstupuje na aktivní místo enzymu (Park et al., 2006). COX-1 vede zejména k okamžité produkci PGE₂, zatímco působení COX-2 směřuje k pomalejší produkci PGE₂ (Hara et al., 2010). COX-1 a COX-2 jsou rozdílně přednostně využívány v závislosti na koncentraci AA. AA je prioritně metabolizována COX-2, pokud je přítomna v nízkých koncentracích. Především se jedná o situace, kdy je AA uvolňována endogenně. Zatímco COX-1 metabolizuje AA v situacích, kdy koncentrace této kyseliny vzrostou na vyšší hodnoty. K těmto situacím dochází díky zvýšenému příjmu AA z vnějšího zdroje nebo pokud dochází k jejímu většímu uvolnění v důsledku probíhajícího akutního zánětu nebo poškození buněk (Park et al., 2006). COX-1 i COX-2 jsou limitujícím faktorem syntézy PGE₂ (Gomez et al., 2013).

Následuje reakce katalyzovaná prostaglandin E syntázou (PGES), vedoucí k přeměně PGH₂ na PGE₂. Je známo, že PGES se vyskytuje nejméně ve třech strukturálně a biologicky odlišných variantách. Dvě z nich jsou vázány na membránu a jsou označovány jako mikrosomální prostaglandin E syntáza 1 (mPGES-1) a mikrosomální prostaglandin E syntáza 2 (mPGES-2). Mikrosomální PGES-1 je perinukleární protein, který je primárně indukován

prozánětlivými stimuly a inhibován nesteroidními glukokortikoidy. Je funkčně propojen s COX-2. Mikrosomální PGES-2 je syntetizována jako protein spjatý s membránou Golgiho aparátu. Proteolytické odstranění hydrofobního N-konce domény vede k vytvoření funkčního cytosolového enzymu mPGES-2. Tento enzym je produkován v různých buňkách a tkáních. Jeho aktivita je funkčně spjata jak s COX-1, tak i s COX-2. Třetím typem je cytosolová PGES (cPGES) produkováná celou řadou buněk. Je funkčně spojena s COX-1 a to tak, aby vedla k okamžité produkci PGE₂ (Hara et al., 2010). Cytosolová PGES a mPGES-2 jsou produkovány konstitutivně, zatímco mPGES-1 je indukována zánětlivou reakcí prostřednictvím různých mediátorů, jako například interleukin 1 β nebo tumor nekrotizující faktor α . PGE₂ je rychle syntetizován prostřednictvím mPGES-1, jejíž aktivita je závislá na kofaktoru glutationu. Přičemž glutation umožňuje vytvoření formace mPGES-1-glutation-PGH₂ trimeru. Výše zmíněnými reakcemi dochází k enzymatické syntéze PGE₂ (Gomez et al., 2013).

PGE₂ může být syntetizován také neenzymatickou cestou. AA je spontánně, za oxidačních podmínek, metabolizována na prostaglandinům podobné molekuly. Jedná se o mechanismus peroxidace lipidů vedoucí ke vzniku isoprostanů (například 8-iso-PGE₂). PGE₂ syntetizovaný neenzymatickou cestou může ovlivňovat příslušné receptory a regulovat tak své účinky, stejně tak jako PGE₂ syntetizovaný cestou enzymatickou (Gomez et al., 2013).

5.3 Sekrece

Jelikož je PGE₂ syntetizován intracelulárně, je třeba jej vyloučit do extracelulárního prostoru, aby mohly být uplatněny jeho účinky. Původní představa o vylučování PGE₂ z intracelulárního prostoru byla taková, že je vylučován prostřednictvím pasivní difuze. Nicméně kinetika transportu PGE₂ nemůže být plně vysvětlena jen touto pomalou difúzí. V důsledku toho byly následně objeveny transportní proteiny MRP4, které exportují prostaglandiny z buněk (Sander et al., 2017). Transportní proteiny MRP4 se řadí do skupiny ATP vázajících kazetových transportérů (ABC transportéry) (Russel et al., 2008). Jsou přítomny v membránách všech typů buněk (Sander et al., 2017). Jedná se o membránové pumpy, které váží a hydrolyzují ATP za účelem translokace substrátu proti difuznímu gradientu. MRP4 mají typickou ABC transportérovou jadernou strukturu. Obsahují dvě membránové domény, z nichž se každá skládá z šesti transmembránových šroubovic se dvěma cytosolově vázanými doménami, které vážou a hydrolyzují ATP. Tyto transportéry jsou schopny vylučovat širokou škálu endogenních látek do extracelulárního prostoru (Russel et al., 2008). Mezi endogenní substráty pro MRP4 transportní proteiny patří leukotrieny, cyklické nukleotidy, glutation konjugované molekuly a také prostaglandiny. PGE₂ je pomocí MRP4

transportních proteinů přepravován do extracelulárního prostoru. Zde působí autokrinně nebo parakrinně na příslušné receptory a ovlivňuje tak signální dráhy prostřednictvím aktivace G proteinu spřaženého s daným receptorem (Tyler et al., 2015).

5.4 Receptory

PGE₂ působí na cílové buňky prostřednictvím specifických receptorů spřažených s G proteiny. Jedná se o receptory EP1, EP2, EP3, EP4, přičemž mezi nejrozšířenější patří právě receptory EP3 a EP4 (Markovič et al., 2017). Všechny uvedené receptory mohou být umístěny na plazmatické membráně buňky nebo na membráně buněčného jádra (Reader et al., 2011). V případě umístění na membráně buněčného jádra, se nejčastěji jedná o receptory EP3 a EP4 (Markovič et al., 2017). Díky tomu, že jsou v jádře přítomny enzymy nezbytné k syntéze prostanoidů, je možné, že PGE₂ je syntetizován přímo v jádře a působí na receptory jaderné membrány (Reader et al., 2011). Kromě rozdílů v lokalizaci se receptory liší také v regulačním mechanismu přenosu signálu. Interakce mezi PGE₂ a EP receptorem závisí na typu tkáně a buňky, specifitě exprese receptoru a rozdílech ve vazebné afinitě. Všechny zmíněné důsledky vedou k unikátní receptorové aktivaci (Markovič et al., 2017).

Struktura receptoru je složena ze sedmi transmembránových šroubovic, extracelulárního N-konce, intracelulárního C-konce a tří mezišroubovicových smyček na obou stranách membrány. Heterotrimerní G protein je složen ze tří podjednotek α , β a γ . G protein se v neaktivní formě vyskytuje jako monomer $G_{\beta\gamma}$ a G_{α} vázající guanosindifosfát (GDP). Po aktivaci receptoru prostřednictvím ligandu dochází na G_{α} podjednotce k fosforylaci GDP na guanosintrifosfát (GTP), což vede ke snížení afinity G_{α} podjednotky k podjednotce $G_{\beta\gamma}$. Výsledná disociace heterodimeru umožňuje komunikaci GTP G_{α} podjednotky a volné $G_{\beta\gamma}$ podjednotky s efekty. Všechny zmíněné reakce v konečném důsledku vedou k aktivaci příslušných signálních drah (Reader et al., 2011). V tabulce 1 je uveden výčet receptorů PGE₂, typy příslušných G proteinů a druhých poslů.

Tabulka 1 Receptory prostaglandinu E₂ (upraveno dle Ricciotti et al., 2011)

Typ receptoru	Typ G-proteinu	Druhý posel
EP1	G _q	↑IP ₃ , DAG, Ca ²⁺
EP2	G _s	↑cAMP
EP3	G _i , G ₁₂	↓cAMP, ↑Ca ²⁺ , Rho
EP4	G _s	↑cAMP

5.4.1 Receptory EP1

Receptor EP1 je spřažen s G_q proteinem a patří do skupiny kontraktilních receptorů. Navázání PGE_2 na vazebné místo receptoru má za následek aktivaci fosfolipázy C (Markovič et al., 2017). To vede ke zvýšení koncentrace cytoplazmatických signalizačních meziproductů, jako je inositoltrifosfát, diacylglycerol a intracelulární vápník. Zvýšení koncentrace zmíněných signalizačních meziproductů je schopno aktivovat proteinkinázu C a spustit kaskádu následných buněčných reakcí (O'Callaghan et al., 2015). Struktura EP1 receptoru se skládá z 402 aminokyselin (Konya et al., 2013). Jedná se většinou o všudy přítomné receptory, ale v nejhojnějším počtu se vyskytují v myometriu, plicních žilách, tlustém střevě a kůži (Markovič et al., 2017; Konya et al., 2013).

5.4.2 Receptory EP2

Receptor EP2 je spřažen s G_s proteinem a byl zařazen do třídy relaxačních receptorů (Markovič et al., 2017). Aktivace EP2 receptoru vede ke stimulaci adenylátcyklázy, což má za následek zvýšení hladiny cAMP. Následná reakce směřuje k aktivaci proteinkinázy A a spuštění dalších buněčných reakcí (Bos et al., 2004). Tyto receptory mohou také aktivovat signální dráhu fosfatidylinositol-3-kinázy prostřednictvím fosforylace vyvolané kinázou receptoru spřaženého s G proteinem (GPCR-kinázou) (O'Callaghan et al., 2015). Receptor EP2 je složen z 358 aminokyselin (Regan, 2003). Jedná se o nejméně často se vyskytující receptory. Nejčastěji se vyskytují v dýchacích cestách, vaječnicích, kostech, leukocytech, hladkém svalstvu a centrální nervové soustavě (Markovič et al., 2017; Konya et al., 2013).

5.4.3 Receptory EP3

Receptor EP3 je spřažen s G_i , G_s a $G_{12/13}$ proteinem (O'Callaghan et al., 2015). Byl klasifikován jako inhibiční receptor. Aktivace EP3 receptoru spřaženého s G_i proteinem vede k inhibici adenylátcyklázy, což má za následek snížení hladiny cAMP. Následná reakce směřuje ke stimulaci proteinkinázy A a spuštění dalších buněčných reakcí (Markovič et al., 2017). EP3 receptor spřažený s G_s proteinem umožňuje svou aktivací zvyšovat produkci cAMP. Jak už bylo zmíněno, EP3 receptory mohou být spřaženy také s $G_{12/13}$ proteinem, navázání PGE_2 na tyto receptory vede k aktivaci malého G proteinu Rho (O'Callaghan et al., 2015). Struktura EP3 receptoru se skládá z 390 aminokyselin. Vysoké zastoupení těchto receptorů bylo prokázáno v tukové tkáni, slinivce nebo ledvinách (Konya et al., 2013). Dále se vyskytují také v centrální nervové soustavě, kardiovaskulárním systému a močovém měchýři (Markovič et al., 2017). Bylo zjištěno, že receptory EP3 vykazují daleko vyšší afinitu k PGE_2 , než receptory EP1

a EP2. To znamená, že receptory EP3 vyžadují daleko nižší koncentraci PGE₂ k vyvolání účinné signalizace ve srovnání s receptory EP1 a EP2 (Sander et al., 2017).

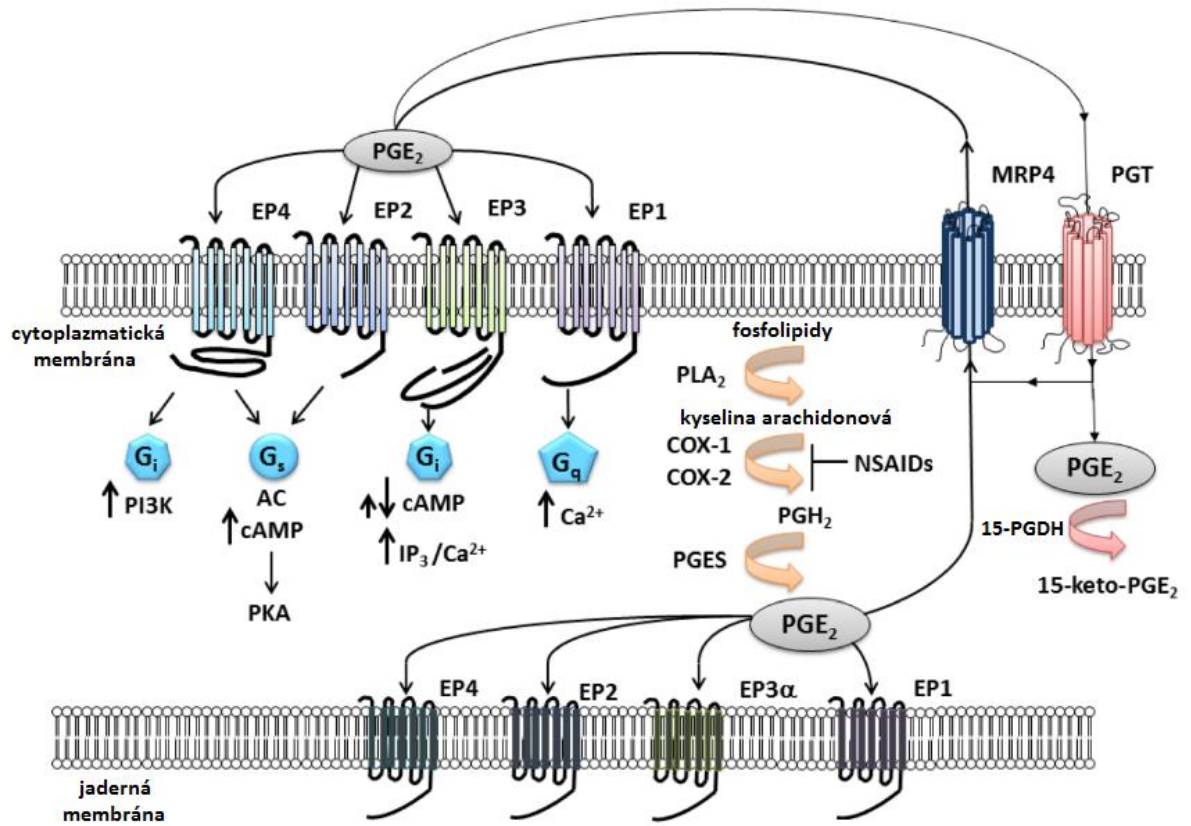
5.4.4 Receptory EP4

Receptor EP4 je spřažen s G_s proteinem. Tento receptor může být mimo jiné regulován také prostřednictvím β-arrestinu nebo EP4 receptorově asociovaného proteinu (EPRAP). EP4 receptor byl klasifikován do skupiny relaxačních receptorů (Markovič et al., 2017). Navázání PGE₂ na receptor vede ke stimulaci adenylátcyklázy, což má za následek zvýšení hladiny intracelulárního cAMP (Konya et al., 2013). Následná reakce vede ke stimulaci proteinkinázy A a spuštění dalších buněčných reakcí. Současně tyto receptory, stejně jako receptory EP2, mohou aktivovat signální dráhu fosfatidylinositol-3-kinázy prostřednictvím fosforylace vyvolané kinázou receptoru spřaženého s G proteinem (GPCR-kinázou) (O'Callaghan et al., 2015). EP4 receptory obsahují 488 aminokyselin. V porovnání s receptory EP2 je aminokyselinové složení EP4 receptorů mnohonásobně větší. Největší část rozdílů v případě EP4 receptoru připadá na delší karboxylový konec a začlenění 25 aminokyselin do třetí intracelulární mezišroubovicové smyčky (Regan, 2003). EP4 receptory se vyskytují převážně v gastrointestinálním traktu, kardiovaskulárním systému, děloze, leukocytech, hladkém svalstvu a kůži (Markovič et al., 2017; Konya et al., 2013). Studie ukázaly, že afinita PGE₂ k receptoru EP4 je vyšší než k receptorům EP1 a EP2 (Konya et al., 2013).

5.5 Degradace

Degradace PGE₂ se skládá ze dvou kroků. V prvním kroku dochází k transportu PGE₂ přes plasmatickou membránu do cytosolu, a to prostřednictvím prostaglandinových transportérů (PGT). Následuje oxidace PGE₂ pomocí 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenázy (15-PGDH) (Tai et al., 2006). PGTs jsou přítomny pouze na buňkách tvořících prostanoidy (Sander et al., 2017). Fungují jako výměníky laktátu a prostaglandinů. Jestliže buňky obsahující PGT jsou schopny vytvářet vlastní intracelulární laktát, nebo byl laktát transportován do buňky, je vychytávání PGE₂ v těchto buňkách urychleno. Předpokládá se, že u buněk, ve kterých je nahromaděn laktát, bude počáteční rychlost vychytávání prostaglandinu vysoká. Bylo zjištěno, že vychytávání prostaglandinu prostřednictvím PGT se mění s rychlostí glykolýzy (Schuster, 2002). Transportovaný intracelulární PGE₂ je rychle metabolizován reakcí katalyzovanou NAD⁺ dependentní 15-PGDH (Tai et al., 2006). 15-PGDH intracelulárně metabolizuje PGE₂ na neaktivní formu a snižuje tak jeho účinek (Tyler et al., 2015). Při reakci dochází k oxidaci 15(S)-hydroxylové skupiny. Vzniklý 15-keto-PGE₂ vykazuje značně sníženou biologickou aktivitu (Tai et al., 2006). Oxidace 15-hydroxy skupiny způsobí neschopnost navázání PGE₂ na

příslušné receptory (Schuster, 2002). Z tohoto důvodu je 15-PGDH považována za klíčový enzym inaktivace PGE₂ (Tai et al., 2006). Schéma biosyntézy a metabolismu PGE₂ je uvedeno na obr. 4.



Obrázek 4 Biosyntéza a metabolismus prostaglandinu E₂ (upraveno dle Reader et al., 2011)

6 FARMAKOLOGIE PROSTAGLANDINU E₂

Účinky PGE₂ je možné ovlivnit několika farmakologickými cestami, jako použitím nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAID) nebo agonistů a antagonistů EP receptorů. NSAID mají široké uplatnění při léčbě zánětu, horečky nebo bolesti. Většina těchto látek blokuje produkci prostanooidů prostřednictvím neselektivní inhibice cyklooxygenáz (Tang et al., 2012). Nevýhodou jejich užívání je vznik nežádoucích účinků na kardiovaskulární systém a ledviny. Současně dráždí gastrointestinální trakt a mají antiagregační vliv na trombocyty, což vede ke zvýšení rizika krvácení (Tang et al., 2012; Koeberle et al., 2015).

Historie NSAID začala v roce 1897, kdy byla poprvé syntetizována kyselina acetylsalicylová, která přišla na trh o dva roky později pod názvem aspirin (Patrono et al., 2009). Následovaly výzkumy vedoucí k syntéze tradičních NSAID, mezi které se řadí například diklofenak. Všechny tyto látky byly vyvinuty tak, aby napodobovaly farmakologické účinky aspirinu, jež je považován za prototyp inhibitoru cyklooxygenáz a je známý především pro svůj analgetický účinek (Patrignani et al., 2015). Aspirin a všechna jiná aspirinu podobná léčiva byla vyvinuta bez jakékoliv znalosti mechanismu jejich účinku, neboť mechanismus jejich působení byl objasněn až v roce 1971 (Patrono et al., 2009). Roku 1990 bylo uvedeno, že indukovaná COX-2 do značné míry přispívá syntézou prostanooidů k rozvoji zánětu. Proto byly farmaceutickým průmyslem vyvinuty selektivní inhibitory COX-2, celecoxib, rofecoxib a lumiracoxib. Tyto selektivní inhibitory COX-2 měly za cíl vyvolat silný protizánětlivý účinek. Nicméně následné klinické studie ukázaly, že u uživatelů těchto inhibitorů se zvyšuje riziko vzniku infarktu myokardu, trombózy, aterosklerózy a jiných kardiovaskulárních onemocnění (Tang et al., 2012).

Vzhledem k nežádoucím účinkům inhibitorů cyklooxygenáz jsou neustále prováděny studie zabývající se novými farmakologickými možnostmi (Koeberle et al., 2015). V současné době se často využívá agonistů nebo antagonistů EP receptorů, přičemž agonista je chemická látka schopná se navázat na aktivní místo receptoru a vyvolat biologické účinky podobné přirozenému ligandu, kdežto antagonistista po navázání na aktivní místo receptoru není schopen vyvolat biologické účinky, ale pouze obsadí vazebné místo pro ligand. Například aktivace EP4 receptorů může sloužit jako terapeutický cíl pro léčbu kardiovaskulárních zánětlivých onemocnění (Tang et al., 2012). Další farmakologickou možností je využití mPGES-1, která je zodpovědná za nadměrnou syntézu PGE₂ během zánětu a byla navržena jako možný farmakologický cíl k potlačení biosyntézy PGE₂ (Koeberle et al., 2015).

7 VÝZNAM PROSTAGLANDINU E₂ V ORGANISMU

PGE₂ se v lidském organismu podílí na velkém množství fyziologických procesů většiny orgánových soustav. K vyvolání účinků dochází aktivací specifických EP receptorů (Konya et al., 2013). PGE₂ může působit jak vasodilatačně, tak vasokonstrikčně, v závislosti na druhu receptoru. Vasodilatační účinek je spojen s EP4 receptory, zatímco vasokonstrikční účinek je zapříčiněn aktivací EP3 receptorů (Zimeck, 2012). PGE₂ navozuje silný vasokonstrikční účinek v plicních žilách a tepnách, ovlivňuje periferní rezistenci a je důležitou složkou regulace krevního tlaku (Legler et al., 2010; Miller, 2006). Vasodilatační účinek, zapříčiněný aktivací EP4 receptorů, může vést k aktivaci endoteliální NO syntázy. Bylo zjištěno, že PGE₂ je prostřednictvím EP4 receptorů zapojen do procesu angiogeneze neboli novotvorby krevních kapilár (Zimeck, 2012). Mimo jiné je také schopen ovlivňovat trombocyty, a to tak, že stimulací EP4 receptorů přítomných na trombocytech dochází k inhibici jejich agregace, a tím také k inhibici vzniku trombu. Kdežto aktivace EP3 receptorů trombocytů vede ke stimulaci agregačního účinku, který má za následek snazší vznik trombu (Zimeck, 2012).

Uvolnění PGE₂ z buněk respiračního epitelu tlumí zánětlivé projevy a vede k rychlejšímu obnovení poškozené tkáně (Konya et al., 2013). Podílí se na bronchodilataci a současně vykazuje bronchoprotektivní účinky u lidí s astmatem (Konya et al., 2013; Miller, 2006). Inhibuje proliferaci buněk hladké svaloviny bronchů. Prostřednictvím aktivace EP4 receptorů navozuje apoptózu plicních fibroblastů (Konya et al., 2013). Spolu s PGI₂ snižuje plicní rezistenci u novorozenců a udržuje propustnost Botallovovy dučeje u plodu. Spolu také působí proti těžké vasokonstrikci a ischemii životně důležitých orgánů, které byly postiženy septickým šokem (Miller, 2006). Studie zaměřené na pacienty s astmatem mírného stupně vedly ke zjištění, že při podání PGE₂ bezprostředně před aplikací alergenu, došlo k oslabení alergické reakce dýchacích cest a zmírnění zánětu (Zimeck, 2012).

V gastrointestinálním traktu PGE₂ reguluje kontrakci a relaxaci hladké svaloviny v částech od jícnu až po tračník (Legler et al., 2010; Miller, 2006). Reguluje peristaltické pohyby gastrointestinálního traktu a snižuje výskyt apoptózy epitelových buněk (Konya et al., 2013; Legler et al., 2010). Působí také jako vasodilatátor. Prostřednictvím cévního endotelového faktoru usnadňuje hojení slizničních ran (Konya et al., 2013). Mimo jiné se podílí na gastrointestinální sekreci a ochraně sliznice. První obranná linie střeva je zprostředkována sekrecí mucinu, který chrání sliznici. V tomto případě je PGE₂ schopen indukovat sekreci mucinu z epitelových buněk žaludku (Legler et al., 2010). Další část ochrany sliznice je

zapříčiněna stimulací sekrece hydrogenuhličitánů v duodenu, ke které dochází aktivací EP1, EP3 nebo EP4 receptorů. Mimo to také vyvolává gastrointestinální sekreci aniontů, jakožto další mechanismus ochrany sliznice (Konya et al., 2013). PGE₂ cestou aktivace EP1 receptorů zvyšuje sekreci pepsinu. Aktivací EP3 receptorů dochází ke snížení sekrece kyseliny chlorovodíkové, kdežto aktivace EP4 receptorů naopak vede ke zvýšení její sekrece. Cestou aktivace EP1, EP2 nebo EP4 dochází ke zvýšení průtoku krve žaludeční sliznicí (Takeuchi et al., 2010).

PGE₂ se podílí na regulaci důležitých funkcí ledvin (Konya et al., 2013). V ledvinách je PGE₂ syntetizován intersticiálními buňkami vzestupného raménka Henleovy kličky a sběrného kanálku. Je nezbytný pro regulaci vylučování solí a vody prostřednictvím čtyř mechanismů, a to tak, že zvyšuje renální průtok krve, inhibuje transport sodných kationtů ze vzestupného raménka Henleovy kličky do intersticiálního prostoru, působí jako agonista antidiuretického hormonu tím, že reguluje prostupnost sběrného kanálku pro vodu a v poslední řadě inhibuje resorpci močoviny a sodného kationtu ze sběrného kanálku (Miller, 2006). Prostřednictvím EP4 receptorů se podílí na udržování homeostázy, a to tak, že reguluje sekreci reninu a cévní tonus. Bylo zjištěno, že kultivované juxtaglomerulární buňky reagují na podání PGE₂ nebo EP4 agonistů zvýšenou sekrecí reninu. PGE₂ je důležitý pro samotný růst a vývoj ledvin (Konya et al., 2013).

V rámci kosterní soustavy má PGE₂ velice proměnlivou funkci (Konya et al., 2013). Byl popsán jako regulační faktor pro tvorbu a hojení kostí (Legler et al., 2010). Ovlivňuje jak osteoblasty, tak i osteoklasty, čímž se zapojuje do tvorby i resorpce kostí (Konya et al., 2013; Miller, 2006). Účastní se remodelace kostní tkáně především ve vztahu k osteoporóze. PGE₂ stimuluje několik druhů posílů kostních buněk, jako například cytosolový vápník, cAMP nebo fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfát (Miller, 2006). Bylo zjištěno, že užívání inhibitorů cyklooxygenáz při léčbě bolesti způsobené zlomeninou kosti, vede ke zpomalenému hojení zlomeniny (Konya et al., 2013).

Úloha PGE₂ je spojená také s rakovinou. PGE₂ napomáhá růstu nádoru a má prokazatelně prokancerogenní účinek, který je spojen s EP4 receptory. Tyto receptory jsou přítomny na nádorových buňkách a mohou být stimulovány autokrinním nebo parakrinním působením PGE₂. Aktivace EP4 receptorů má za následek spuštění různých buněčných odpovědí, jako je proliferace buněk, vznik metastáz a útlum apoptózy nádorových buněk. Bylo zjištěno, že inhibitory COX-2 snižují množství nádorových buněk a metastáz. Dlouhodobé

podávání inhibitorů cyklooxygenáz, jako je kyselina acetylsalicylová, může mít značné profylaktické účinky proti některým druhům rakoviny (Konya et al., 2013).

V reprodukčním systému má PGE₂ jak u mužů, tak u žen hned několik funkcí. Reguluje činnost hladkého svalstva a navozuje vasodilataci. U mužů je syntetizován především v semenných váčcích a podílí se na regulaci biologických pochodů, jako je erekce, ejakulace a usnadnění transportu spermií. V ženském reprodukčním systému se zapojuje do procesu ovulace a fertilizace (Miller, 2006).

PGE₂ je zapojen také do alergické reakce, kde vede k inhibici akumulace eozinofilů, degranulace eozinofilů a vyvolává jejich apoptózu. Inhibuje chemotaxi eozinofilů a navozuje změnu respiračního epitelu dýchacích cest. Stimulace EP4 receptorů vede k vyvolání bronchodilatace (Zimeck, 2012).

Jednou z důležitých funkcí PGE₂ je jeho účast v mechanismech zánětu. Podílí se na všech procesech vedoucích ke vzniku klasických známek zánětu, jako je zarudnutí, otok a bolest. Zarudnutí a otok jsou výsledkem zvýšeného průtoku krve zanícenou tkání, což je důsledek arteriální dilatace a zvýšené permeability cév. Jako prozánětlivý mediátor se podílí na regulaci exprese cytokinů. Mimo jiné může PGE₂ stimulovat buňky vrozené imunity, jako jsou neutrofilů, monocytů a NK buňky (Legler et al., 2010).

Úloha PGE₂ v imunitním systému je spojena s inhibicí proliferace T-lymfocytů cestou aktivace EP2 receptorů. EP2 a EP4 receptory jsou zodpovědné za snížení produkce cytokinů. Další úlohou PGE₂ je inhibice tumor nekrotizujícího faktoru α v důsledku aktivace EP4 a částečně i EP2 receptorů, zatímco ke zvýšení produkce interleukinu 6 dochází přes EP2 receptory. Mimo jiné je PGE₂ schopen inhibovat růst buněčných linií závislých na interleukinu 4 nebo interleukinu 2 (Zimeck, 2012).

Účinky PGE₂ jsou spojeny s celou řadou jiných orgánů, jako je oko, vnitřní ucho nebo mozek. Ve všech zmíněných orgánech jsou účinky PGE₂ projevem především aktivace EP4 receptorů (Konya et al., 2013). V játrech je úloha PGE₂ směřována k ochraně tohoto orgánu (Zimeck, 2012). V centrálním nervovém systému je PGE₂ zapojen do regulace tělesné teploty, vzniku horečky, spánku a hyperalgezie neboli přecitlivělosti na bolest (Legler et al., 2010; Miller, 2006). Funkce PGE₂ jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 2 Souhrn funkcí prostaglandinu E₂

(sepsáno dle Konya et al., 2013; Legler et al., 2010; Miller, 2006; Takeuchi et al., 2010; Zimeck, 2012)

Místo působení prostaglandinu E₂	Funkce prostaglandinu E₂
Dýchací soustava	<ul style="list-style-type: none"> útlum zánětlivých projevů obnova poškozené tkáně bronchodilatace inhibice proliferace buněk hladké svaloviny stimulace apoptózy fibroblastů snížení plicní rezistence udržování propustnosti Botallovovy dučeje
Trávicí soustava	<ul style="list-style-type: none"> kontrakce a relaxace hladké svaloviny regulace peristaltického pohybu stimulace antiapoptického účinku vasodilatace obnova poškozené sliznice stimulace sekrece pepsinu regulace sekrece kyseliny chlorovodíkové stimulace sekrece mucinu stimulace sekrece hydrogenuhličitanů regulace sekrece aniontů stimulace průtoku krve žaludeční sliznicí
Ledviny	<ul style="list-style-type: none"> stimulace renálního průtoku krve regulace cévního tonu inhibice transportu Na⁺ agonista antidiuretického hormonu regulace sekrece reninu inhibice resorpce močoviny a Na⁺ regulace proliferace buněk
Kosterní soustava	<ul style="list-style-type: none"> regulace osteoblastů a osteoklastů účast při tvorbě a resorpci kostí remodelace kostní tkáně
Ženská pohlavní soustava	<ul style="list-style-type: none"> regulace tonu hladké svaloviny vasodilatace účast při ovulaci účast při fertilizaci
Mužská pohlavní soustava	<ul style="list-style-type: none"> regulace tonu hladké svaloviny vasodilatace účast při erekci účast při ejakulaci usnadnění transportu spermií
Centrální nervová soustava	<ul style="list-style-type: none"> regulace tělesné teploty účast při regulaci spánku účast při horečce účast při rozvoji hyperalgezie
Imunitní systém	<ul style="list-style-type: none"> inhibice proliferace T-buněk inhibice produkce cytokinů inhibice tumor nekrotizujícího faktoru α stimulace produkce interleukinu 6

Místo působení prostaglandinu E₂	Funkce prostaglandinu E₂
Nádor	růst nádoru proliferace nádorových buněk vznik metastáz útlum apoptózy nádorových buněk
Alergie	inhibice akumulace eozinofilů inhibice degranulace eozinofilů stimulace apoptózy eozinofilů inhibice chemotaxe eozinofilů změna respiračního epitelu bronchodilatace
Záněť	vznik zarudnutí, otoku rozvoj bolesti stimulace průtoku krve zanícenou tkání regulace exprese cytokinů stimulace buněk vrozené imunity
Cévy	vasodilatace vasokonstrikce aktivace NO syntázy angiogeneze
Trombocyty	regulace agregace trombocytů regulace vzniku trombu

8 ZÁNĚTLIVÁ REAKCE

8.1 Průběh zánětu

Zánět je primární odpověď organismu na jakoukoliv infekci nebo poranění tkáně (Rodriguez-Vita et al., 2010). Jedná se o biologický proces, který vede k odstranění škodlivých faktorů, napomáhá obnově tkáně a vytváří imunologickou paměť, která vyvolává rychlejší odezvu při opakovaném setkání s patogenem (Stables et al., 2011).

Akutní zánět je charakterizován zarudnutím, otokem, bolestí a zvýšením teploty v oblasti postiženého místa. Zarudnutí a zvýšení teploty jsou výsledkem zvýšeného průtoku krve zanícenou tkání, zatímco otok je vyvolán zvýšenou permeabilitou cév a akumulací leukocytů v místě poškození (Kawahara et al., 2015). Rozvoj zánětu je funkčně propojen s buňkami imunitními, jako jsou neutrofilů, lymfocyty, monocytů a makrofágy. Další nezbytnou složkou při rozvoji zánětu jsou buňky hladkého svalstva, endotelové buňky a fibroblasty (Gilroy, 2010; Gomez et al., 2013).

V počáteční fázi zánětu se uplatňují toll-like receptory buněk imunitního systému (Kawahara et al., 2015). Tyto receptory jsou přítomny na povrchu makrofágů a dendritických buněk, které jsou díky těmto receptorům schopny identifikovat poranění nebo přítomnost patogenu. Toll-like receptory rozpoznávají mikrobiální molekulární vzory, nebo intracelulární proteiny, které jsou uvolňovány poškozenou tkání. Příkladem ligandů, které mají schopnost se navázat na takovéto receptory jsou například bakteriální lipopolysacharidy, peptidoglykany, nukleotidy nebo jaderné proteiny (Lawrence et al., 2010).

V průběhu zánětu jsou do okolí postiženého místa uvolňovány zánětlivé mediátory, jako cytokiny, chemokiny, bioaktivní aminy a lipidové mediátory. Všechny zmíněné látky jsou produkty makrofágů, dendritických a žírných buněk (Lawrence et al., 2010). Mezi hlavní zástupce třídy cytokinů patří tumor nekrotizující faktor α a interleukiny, především interleukin 1 β a interleukin 6 (Gomez et al., 2013). Zvýšení cévní permeability v průběhu zánětu má za následek prostup plazmy spolu s proteiny komplementu do extravaskulárního prostoru. Tento zmíněný mechanismus vede k zesílení zánětlivé reakce (Rodriguez-Vita et al., 2010).

Procesem chemotaxe je umožněna migrace leukocytů z krve do tkání (Jiang et al., 2013). V místě zánětu dochází k akumulaci polymorfonukleárních neutrofilů a monocytů (Lawrence et al., 2010). Polymorfonukleární neutrofilů jsou prvními buňkami, které se akumulují v poškozené tkáni. Tvoří první ochrannou linii vrozeného imunitního systému, a to

díky jejich schopnosti fagocytovat a usmrcovat cizorodé mikroorganismy (Freire et al., 2013). Monocyty se v místě zánětu diferencují v makrofágy a dendritické buňky. Makrofágy se spolu s neutrofily podílejí na procesu fagocytózy. Oproti neutrofilům mají makrofágy mnohem delší životnost. Dendritické buňky jsou jedinečné svou schopností prezentovat antigen cizorodých mikroorganismů, přesunout se do lymfatických uzlin a aktivovat NK buňky (Lawrence et al., 2010). Fagocytóza mikroorganismů je následována naprogramovanou buněčnou smrtí neutrofilů (Stables et al., 2011). Poté dochází k fagocytóze zbytků a apoptických polymorfonukleárních neutrofilů prostřednictvím monocytů a makrofágů. V konečné fázi nastupuje proces efferocytózy, při němž jsou likvidovány makrofágy, které ukončily fagocytózu apoptických neutrofilů (Freire et al., 2013).

Resoluce zánětu vyžaduje ukončení prozánětlivé signalizace, odstranění zánětlivých buněk a obnovení normální funkce tkáně. Jakékoliv selhání některého ze zmíněných mechanismů může vést ke vzniku chronického zánětu (Lawrence et al., 2010).

Chronický zánět je součástí patogeneze mnoha onemocnění, jako je metabolický syndrom, rakovina, revmatoidní artritida, astma, ateroskleróza nebo infarkt myokardu (Aoki et al., 2012; Freire et al., 2013; Stables et al., 2011).

8.2 Prostaglandin E₂ jako mediátor zánětu

PGE₂ je během zánětu produkován jak buňkami imunitními, zánětlivými, cévními, buňkami hladkého svalstva, tak i fibroblasty. Zánětlivé mediátory, jako například cytokiny makrofágů umožňují v průběhu zánětu transkripci cílových genů COX-2 a mPGES-1, poté aktivují nukleární faktor κ B (NF- κ B) a tím zvyšují syntézu PGE₂. Produkce PGE₂ může být stimulována také NO syntázou, která mechanismem propojeným s cyklickým guanosinmonofosfátem interaguje s cyklooxygenázami a zvyšuje tak produkci PGE₂ (Gomez et al., 2013).

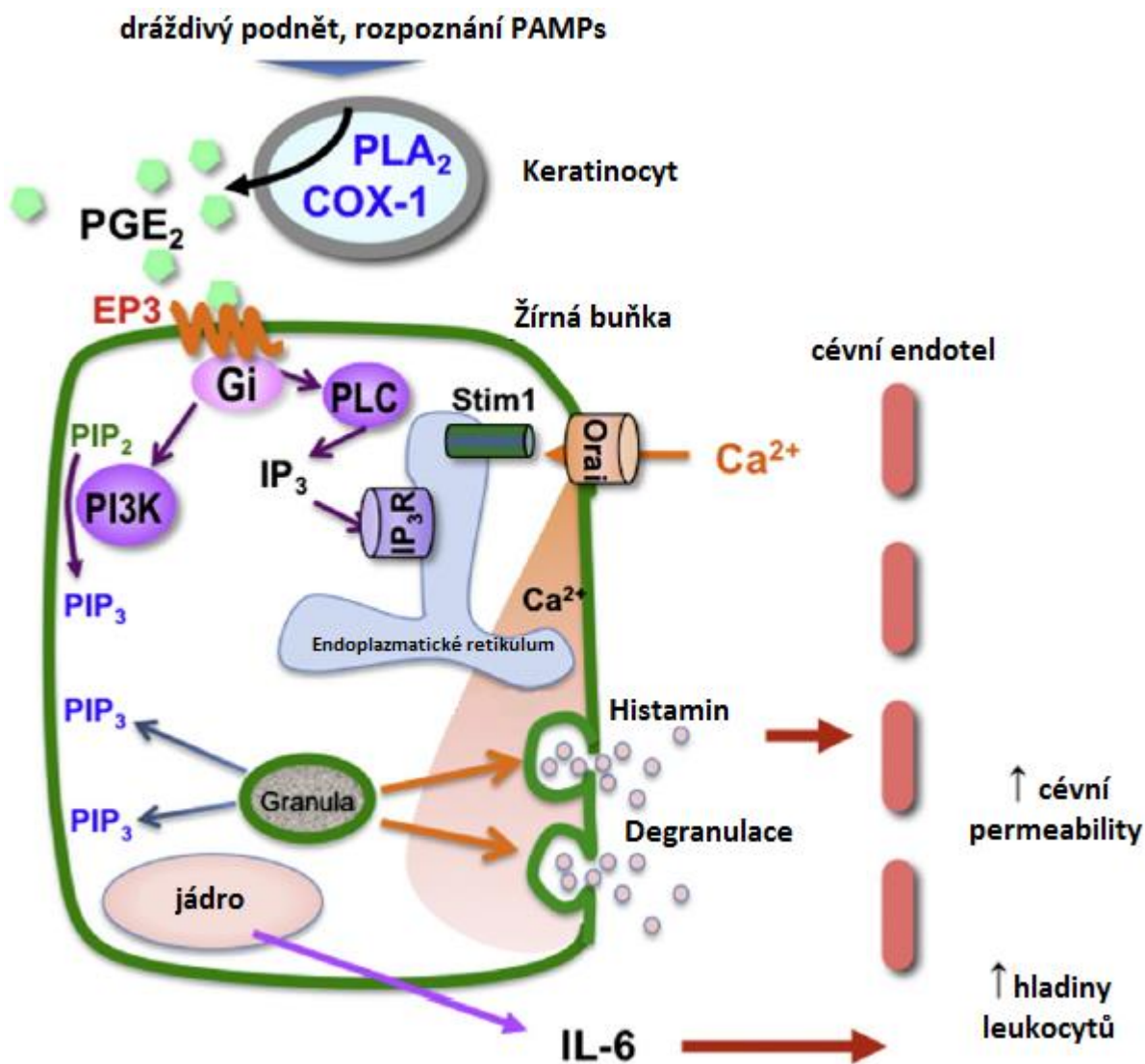
Úloha PGE₂ při zánětu je velice rozmanitá, jelikož se jako mediátor zapojuje do prozánětlivých i protizánětlivých procesů (Gomez et al., 2013). Je zapojen do všech dějů vedoucích ke klasickým známkám zánětu, jako je zarudnutí, otok, zvýšení teploty a rozvoj bolesti v místě zánětu (Ricciotti et al., 2011). Zvyšuje cévní permeabilitu, ovlivňuje proliferaci buněk a reguluje cévní tonus hladkého svalstva. Je hlavním mediátorem zánětlivých procesů kardiovaskulárního systému a přispívá například k patologii aterosklerózy (Gomez et al., 2013).

8.2.1 Prozánětlivé účinky prostaglandinu E₂

V průběhu počáteční fáze zánětu je úloha PGE₂ spojena s navozením vasodilatace a zvýšením cévní permeability (Nakanishi et al., 2013; Ricciotti et al., 2011). Cílem těchto změn je usnadnit příliv neutrofilů, makrofágů a žírných buněk z krevního řečiště do tkáně, což má za následek vznik otoku a zarudnutí v místě poškození nebo infekce tkáně (Nakanishi et al., 2013). Mimo to PGE₂ stimuluje nociceptivní dráhy a vede tak k rozvoji bolesti (Chen et al., 2013). PGE₂ se podílí na regulaci T-lymfocytů a ovlivňuje produkci cytokinů. Umožňuje expanzi Th17 lymfocytů, které se řadí do podskupiny CD4⁺ pomocných T-lymfocytů a vyznačují se produkcí interleukinu 17. Interleukin 17 je silný prozánětlivý mediátor ze skupiny cytokinů, který umožňuje přesun monocytů a neutrofilů do místa zánětu (Nakanishi et al., 2013). PGE₂ současně také navozuje diferenciaci Th1 lymfocytů a snižuje schopnost zánětlivých leukocytů fagocytovat a zabít cizorodé mikroorganismy (Buckley et al., 2014; Kawahara et al., 2015). Mimo jiné ovlivňuje B-lymfocyty a inhibuje tvorbu IgE protilátek (Kalinski, 2012).

8.2.1.1 Zvýšení cévní permeability

Zvýšení cévní permeability indukované PGE₂ (obr. 5) je zprostředkováno žírnými buňkami a aktivací jejich EP3 receptorů. Žírné buňky jsou široce zastoupeny v různých periferních tkáních včetně kůže. Proces zvýšení cévní permeability je zahájen kontaktem s dráždivým podnětem nebo rozpoznáním molekulárních vzorů buněk patogenních mikroorganismů (PAMPs). Dochází ke stimulaci PLA₂ a následnému uvolnění AA, která je ihned využita pro syntézu PGE₂. Syntetizovaný PGE₂ je uvolněn a následně schopen aktivovat EP3 receptory žírných buněk. Aktivace EP3 receptorů vyvolává akumulaci fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfátu a nárůst intracelulárního vápníku. Oba procesy jsou zapříčiněny aktivací G_i proteinu spřaženého s EP3 receptorem. Akumulace fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfátu je katalyzována fosfatidylinositol-3-kinázou, zatímco nárůst intracelulárního vápníku je zprostředkován aktivací Stim1-Orai kanálů pro vápník, k níž dochází úbytkem vápníku v endoplazmatickém retikulu. Aktivace EP3 receptoru nakonec vede k degranulaci žírných buněk, uvolnění histaminu a produkci interleukinu 6. Uvolnění histaminu zprostředkovává zvýšení cévní permeability, kdežto interleukin 6 napomáhá zvýšení hladiny neutrofilů v místě zánětu. Vyvolání výše zmíněných účinků PGE₂ v konečném důsledku vede ke vzniku otoku (Kawahara et al., 2015).

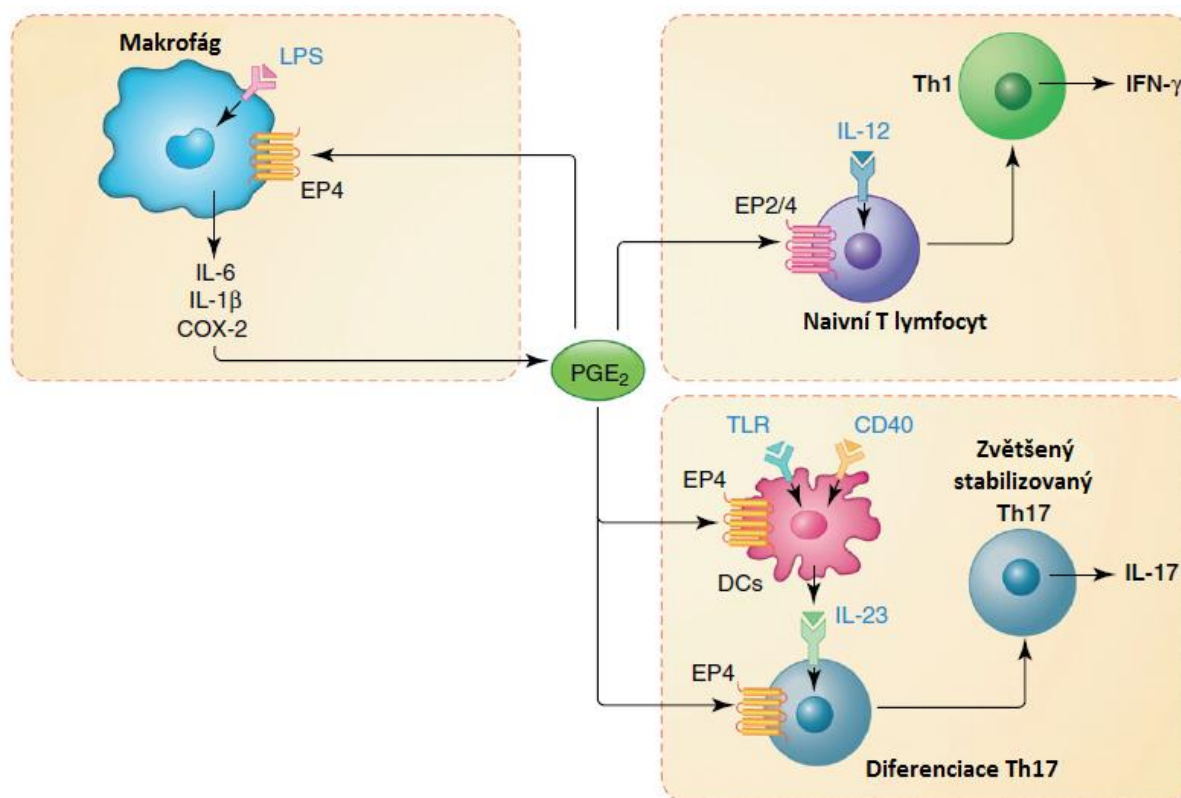


Obrázek 5 Prostaglandinem E₂ stimulovaný mechanismus zvýšení cévní permeability
(upraveno dle Kawahara et al., 2015)

8.2.1.2 Regulace cytokinů

PGE₂ je schopen regulovat některé buňky imunitního systému (obr. 6). Podílí se na regulaci rovnováhy mezi různými formami odpovědi T-lymfocytů. Je schopen selektivně inhibovat produkci Th1 cytokinu, interferonu γ , ale na druhou stranu stimuluje produkci Th2 cytokinů, interleukinu 4 a interleukinu 5. Mimo jiné potlačuje produkci interleukinu 12 v monocytech a dendritických buňkách a zároveň snižuje expresi receptorů pro tento interleukin (Kalinski, 2012). PGE₂ po navázání na EP4 receptory makrofágů je spolu s lipopolysacharidy schopen vyvolat produkci interleukinu 6, interleukinu 1 β a COX-2 (Aoki et al., 2012). Mimo to podporuje diferenciaci Th1 lymfocytů z naivních T-lymfocytů, a to cestou synergického působení interleukinu 12 a aktivovaných EP2 nebo EP4 receptorů naivních

T-lymfocytů (Sakata et al., 2010). PGE₂ je také schopen stimulovat dendritické buňky a podporovat produkci interleukinu 23 spolupůsobením ligandu CD40, toll-like receptorů a aktivovaných EP4 receptorů. Interleukin 23 poté působí spolu s aktivovanými EP4 receptory na Th17 lymfocyty a umožňuje jejich zvětšení a stabilizaci (Aoki et al., 2012).



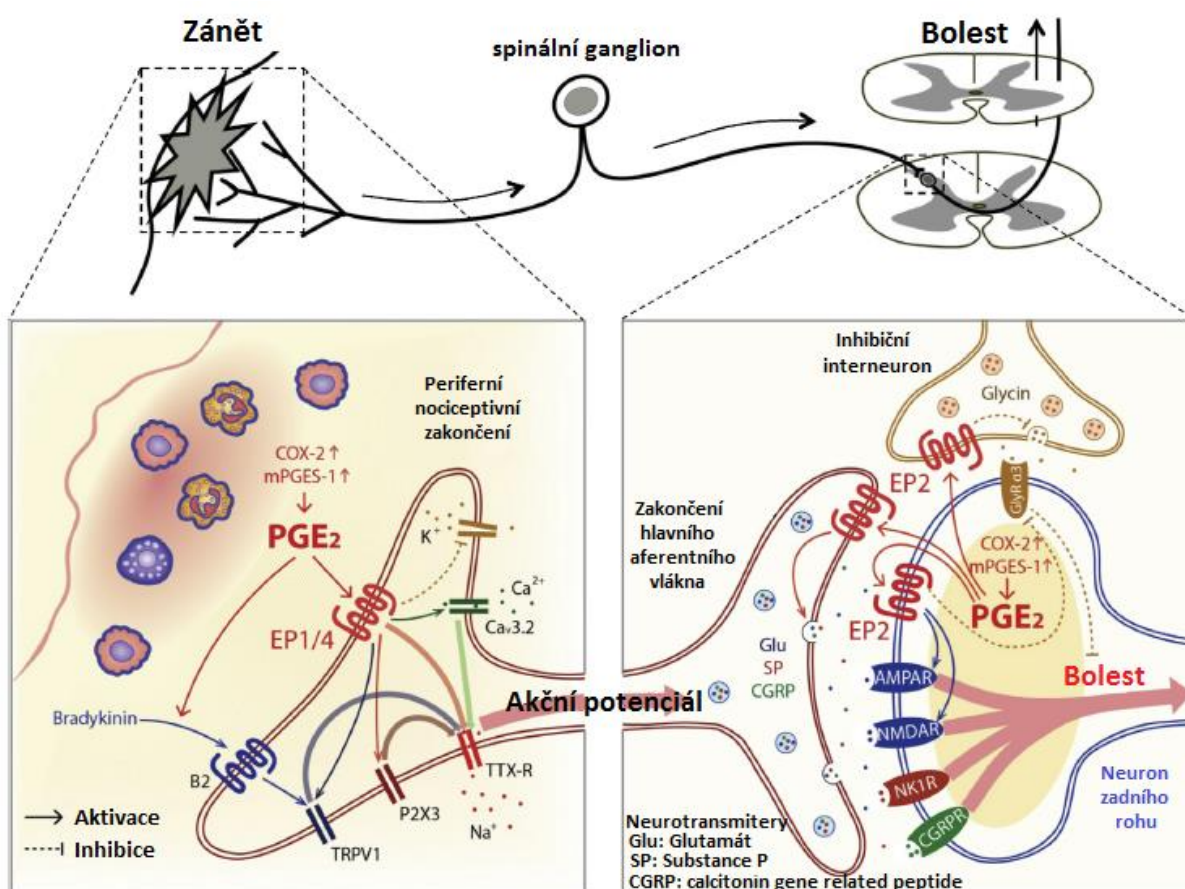
Obrázek 6 Prostaglandinem E₂ stimulovaná regulace imunitních buněk (upraveno dle Aoki et al., 2012)

8.2.1.3 Rozvoj bolesti

PGE₂ má schopnost působit na periferní nociceptivní zakončení cestou přímých nebo nepřímých mechanismů (obr. 7). Aktivací příslušných EP receptorů, zejména EP1 a EP4, může přímo ovlivňovat funkci iontových kanálů (Chen et al., 2013). Nejdůležitější mechanismus PGE₂ na periferních nociceptivních zakončeních je zvýšení činnosti TRPV1 kanálů, a to především prostřednictvím proteinkinázy C (Chen et al., 2013; Kawabata, 2011). TRPV1 kanály, jejichž úkolem je regulace tělesné teploty, jsou konstitutivně exprimovány na periferních zakončeních nociceptivních drah (Chen et al., 2013). Další funkce PGE₂ jsou spojeny s aktivací tetrodotoxinu odolných sodíkových kanálů (TTX-R Na⁺), inhibicí napětově řízených draslíkových kanálů, aktivací vápníkových kanálů a purinergních P2X3 kanálů (Chen et al., 2013; Kawabata, 2011). PGE₂ je také schopen zvýšením koncentrace intracelulárního vápníku inhibovat draslíkové kanály. Mimo výše zmíněné mechanismy má PGE₂ také nepřímé účinky na rozvoj bolesti. Stimuluje množství bradykininu, který působí na B2 receptory nebo

reguluje množství kapsaicinu, který ovlivňuje TRPV1 kanály. Bylo prokázáno, že malá dávka injekčně podaného PGE₂ do podkoží vyvolává dlouhotrvající hyperalgezií na mechanické a chemické podněty (Chen et al., 2013).

PGE₂ se podílí jak na presynaptické, tak na postsynaptické senzibilizaci. Umožňuje uvolnění excitačních neurotransmiterů, jako je glutamát, substance P nebo CGRP (calcitonin gene related peptide). Uvolnění neurotransmiterů je zapříčiněno nárůstem intracelulárního vápníku. Na postsynaptické části se PGE₂ váže na receptor EP2, což vede k aktivaci AMPA (2-amino-3-(5-methyl-3-oxo-1,2-oxazol-4-yl)propanová kyselina) a NMDA (N-methyl-D-asparagová kyselina). Aktivace AMPA a NMDA má za následek aktivaci neselektivních kationtových kanálů. Všechny tyto reakce zvyšují přenos nociceptivních signálů a zvyšují tak intenzitu bolesti při zánětu. Mimo to může PGE₂ usnadnit vedení zánětlivé bolesti a to tak, že se naváže na EP2 receptor inhibičního interneuronu, sníží uvolňování neurotransmiteru glycinu a zároveň inhibuje receptory pro glycin na postsynaptické části (Chen et al., 2013).



Obrázek 7 Prostaglandinem E₂ stimulovaný mechanismus rozvoje bolesti (upraveno dle Chen et al., 2013)

8.2.2 Protizánětlivé účinky prostaglandinu E₂

PGE₂ se podílí na kontrole řady mechanismů vedoucích k resoluci zánětu a následné obnově tkáně. Jedním z podstatných účinků PGE₂ je schopnost inhibovat produkci interleukinu 2 a expresi receptorů pro tento interleukin na T-lymfocytech. Potlačení produkce interleukinu 2 přispívá k inhibici proliferace efektorových T-lymfocytů a mimo to podporuje změnu imunitní odpovědi z Th1 přednostně na Th2 odpověď. Imunitní reakce Th1 lymfocytů stimuluje produkci interferonu γ a tumor nekrotizujícího faktoru α , což umožňuje zvýšení cytotoxické aktivity makrofágů a cytotoxických T-lymfocytů. Oproti tomu imunitní odpověď Th2 lymfocytů obecně méně poškozuje tkáň a vede k produkci interleukinu 4 a interleukinu 13 (Nakanishi et al., 2013). Většina protizánětlivých účinků PGE₂ je vyvolána jeho vazbou na EP4 receptory. Aktivací EP4 receptorů umožňuje modulaci makrofágových a T-lymfocytových funkcí, které se mimo vrozené a získané imunity podílejí i na remodelaci a opravách tkáně. Aktivace EP4 receptorů mimo jiné umožňuje řízení buněčné apoptózy (Tang et al., 2012). Dále PGE₂ potlačuje cytotoxické účinky NK buněk a CD8⁺ cytotoxických T-lymfocytů. V monocytech napomáhá inhibici produkce chemokinů CCL19, jehož přirozenou funkcí je přilákání naivních T-lymfocytů do místa zánětu (Nakanishi et al., 2013). Mimo to bylo dokázáno, že PGE₂ potlačuje tvorbu interleukinu 12 a interleukinu 10 (Jiang et al., 2013; Nakanishi et al., 2013).

PGE₂ se zapojuje také do procesu regenerace tkání, jakožto konečné fáze zánětlivé reakce. Epitelové buňky jsou nezbytné pro udržení homeostázy sliznice střev. Zde přítomná tkáň je neustále vystavována možnosti vzniku zánětu. Syntéza PGE₂ ve sliznicích je nezbytná pro udržení epitelální bariérové funkce. Jako součást mechanismu regenerace tkáně dochází prostřednictvím PGE₂ přímo k vyvolání proliferace epitelových buněk cestou několika klíčových drah. Mimo to může PGE₂ aktivovat dráhy mitogenem aktivované kinázy (MAPK), a to prostřednictvím transaktivace receptorů epidermálního růstového faktoru. PGE₂ je schopen stimulovat expresi cévního endotelového růstového faktoru v plicích a žaludečních fibroblastech, podporuje angiogenezi a ovlivňuje migraci endotelových buněk. Další složkou zapojující se do regenerace tkání jsou myofibroblasty. Jedná se o diferencované mezenchymální buňky, které přispívají k regeneraci tkání sekrecí transformujícího růstového faktoru, epidermálního růstového faktoru a základního fibroblastového růstového faktoru. Bylo prokázáno, že PGE₂ inhibuje diferenciaci myofibroblastů a tlumí jejich vylučování kolagenu v průběhu plicní a kožní fibrózy (Nakanishi et al., 2013).

9 PROSTAGLANDIN E₂ V KARDIOVASKULÁRNÍM SYSTÉMU

PGE₂ je klíčovým mediátorem při zánětlivých procesech kardiovaskulárního systému (Gomez et al., 2013). Prostřednictvím EP receptorů řídí cévní tonus, adhezi buněk a podílí se na patogenezi kardiovaskulárních onemocnění jako je ateroskleróza, hypertenze, ischemická choroba srdeční, srdeční hypertrofie a srdeční fibróza (Foudi et al., 2012; Suzuki et al., 2011). V průběhu patofyziologických procesů jsou jeho účinky často spojeny s infiltrací monocytů, makrofágů a neutrofilů (Foudi et al., 2012). EP receptory jsou v kardiovaskulárním systému přítomny na různých buňkách, jako jsou kardiomyocyty, cévní endotelové buňky nebo buňky hladkého svalstva. Při studiích, jak *in vivo*, tak *in vitro* byl u EP3 a EP4 receptorů prokázán jejich kardioprotektivní účinek (Suzuki et al., 2011).

PGE₂ se podílí různými funkcemi na procesu regulace krevního tlaku, a to v závislosti na místě svého působení. Studie na hlodavcích ukázaly, že centrálně podávaný PGE₂ navozuje hypertenzi, ale systémové podávání PGE₂ vede ke vzniku hypotenze. Mimo jiné je PGE₂ schopen regulovat krevní tlak také prostřednictvím sekrece reninu. Výsledný efekt PGE₂ je dán rovnováhou mezi aktivací EP1 a EP3 receptorů, které zvyšují krevní tlak a aktivací EP2 a EP4 receptorů, které vedou ke snížení krevního tlaku. Preferenční aktivace konkrétního podtypu EP receptoru poté vede k určité změně krevního tlaku. Podrobné prozkoumání signálních drah PGE₂ nabízí možnost pro rozvoj nových antihypertenziv, jejichž cílem by mohla být cílená regulace EP receptorů (Yang et al., 2012).

PGE₂ se vyznačuje kardioprotektivním účinkem, ke kterému dochází útlumem aktivity zánětlivých buněk v srdci. EP3 receptory jsou konstitutivně exprimovány na kardiomyocytech, jsou schopny inhibovat adenylátcyklázu a tím snižují koncentraci cAMP v kardiomyocytech. Zvýšená exprese těchto receptorů na kardiomyocytech vede k redukcii ischemických srdečních selhání. Díky vyvinutí agonistů EP4 receptorů bylo zjištěno, že tyto receptory zlepšují stažlivost komor a snižují produkci chemokinů při ischemických stavech (Suzuki et al., 2011). V budoucnu by mohla být hlouběji prozkoumána role signální dráhy EP4 receptorů ve spojení s rozvojem nových terapeutických možností pro léčbu pacientů s ischemickou chorobou srdeční (Pang et al., 2016).

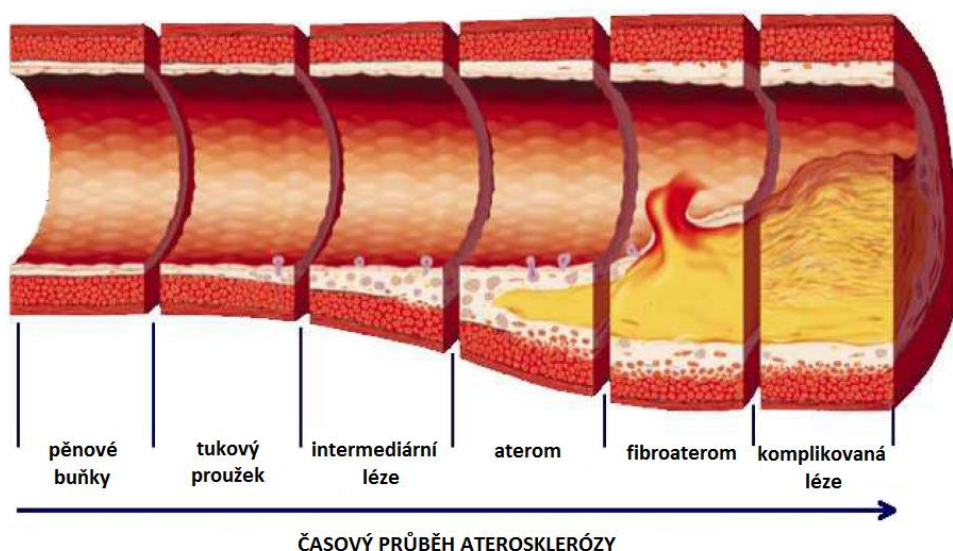
Úloha PGE₂ je spojena také s transplantacemi srdce, při nichž hrají důležitou roli především cytokiny a chemokiny. Na několika modelech bylo prokázáno, že EP2 a EP4 agonisté jsou schopny prodlužovat dobu přežití allotransplantátu. Mimo to agonisté EP4

receptorů potlačují infiltraci buněk myokardu a snižují množství zánětlivých cytokinů a chemokinů cestou snížení aktivity makrofágů (Suzuki et al., 2011).

V případě myokarditidy, zánětlivého onemocnění srdce, jsou antagonisté EP4 receptorů schopny zcela zvrátit produkci chemokinů vyvolanou PGE₂ (Suzuki et al., 2011). Nejen EP receptory jsou terapeutickým cílem pro léčbu kardiovaskulárních chorob, také cyklooxygenázy a mPGES-1 představují možnost pro rozvoj nových léčiv. Studie na myších, u nichž byl navozen deficit mPGES-1 ukázaly, že tyto inhibitory mohou být svým účinkem a průběhem působení výhodnější než NSAID (Norel, 2007; Wang et al., 2008).

9.1 Ateroskleróza

Ateroskleróza je chronické onemocnění spojené s patofyziologickými reakcemi v cévní stěně (Capra et al., 2013). Onemocnění je charakterizováno zúžením cévy v důsledku akumulace lipidů a pojivové tkáně ve stěně cévy (Gomez et al., 2013; Hansson, 2005). Prvotní fáze aterosklerózy je spojena se vznikem pěnových buněk. Jedná se o makrofágy, které ve své cytoplazmě hromadí lipidy. Akumulací těchto pěnových buněk vzniká tukový proužek, který následně přechází do stádia intermediární léze, při které dochází k extracelulárnímu ukládání lipidů. Následuje vznik ateromu neboli aterosklerotického plátu, který je tvořen lipidovým jádrem. V pozdní fázi dochází ke vzniku fibroateromu, který je charakterizován zvýšenou proliferací buněk hladkého svalstva v intimě cévy a zvýšenou syntézou extracelulární matrix. V důsledku toho dochází ke vzniku takzvané čepičky aterosklerotického plátu. Následnými komplikacemi může být ruptura plátu, krvácení do ateromu nebo vznik trombu (Hansson, 2005). Na obr. 8 je znázorněn časový průběh aterosklerózy.



Obrázek 8 Progrese aterosklerózy v čase (upraveno dle Sanchez Santana et al., 2013)

9.1.1 Úloha prostaglandinu E₂ při ateroskleróze

PGE₂, jakožto produkt aktivovaných makrofágů, je zapojen také do procesu aterosklerózy (Babaev et al., 2008). V průběhu aterosklerózy může fungovat jako endogenní protizánětlivý mediátor potlačující produkci cytokinů, ale na druhou stranu může vystupovat jako mediátor prozánětlivý, který je produkován různými typy buněk cévní stěny a hraje klíčovou roli především v časně fázi aterosklerózy (Yang et al., 2011). Produkce PGE₂ se s progresí aterosklerózy neustále zvyšuje (Iezzi et al., 2007). Je známo, že aterosklerotické pláty vykazují zvýšenou biosyntézu tohoto mediátoru, přičemž vysoké koncentrace PGE₂ produkovaného aktivovanými makrofágy se podílí na patologických stavech, jako je ruptura aterosklerotického plátu (Friedman et al., 2015; Schober et al., 2011).

COX-2 a mPGES-1 se podílejí na PGE₂ dependentní biosyntéze matrixové metaloproteinázy, která je funkčně spjata s patologickým stavem ruptury aterosklerotického plátu. Mimo to může PGE₂ fungovat jako prozánětlivý mediátor, který zvyšuje schopnost makrofágů exprimovat proteolytické enzymy, jako je matrixová metaloproteináza 2 (MMP-2) a matrixová metaloproteináza 9 (MMP-9), a to prostřednictvím regulace dráhy cAMP. Stejně tak může pomocí regulace dráhy cAMP snižovat zánětlivou aktivaci makrofágů potlačením exprese cytokinů a chemokinů, které mají za následek akumulaci leukocytů v ateromu. PGE₂ je schopen inhibovat proliferaci buněk hladkého svalstva cév, která je indukována interleukinem 1. Všechny zmíněné funkce PGE₂ jsou realizovány autokrinní nebo parakrinní regulací příslušných EP receptorů, jejichž úloha je v průběhu aterosklerózy individuální (Yang et al., 2011).

PGE₂ syntetizovaný v aterosklerotickém plátu může působit na trombocyty a regulovat jejich agregaci (Friedman et al., 2015; Gomez et al., 2013). Mimo jiné může být PGE₂ produkován také aktivovanými trombocyty (Friedman et al., 2015). Velké množství PGE₂ v trombocytech, aterosklerotických plátech a aktivovaných makrofázích naznačuje, že PGE₂ významně přispívá k fyziologii a patofyziologii cévní trombózy (Friedman et al., 2015). V průběhu aterotrombózy, jakožto pokročilého stavu aterosklerózy, je PGE₂ schopen navozovat vazodilataci cév a snižovat produkci prokolagenu buněk hladkého svalstva cév (Linton et al., 2008). Mimo jiné bylo také prokázáno, že pacienti s aterosklerózou karotid vykazují zvýšenou expresi COX-2, mPGES-1 a specifických EP receptorů v oblastech aterosklerotických plátů (Gómez-Hernández et al., 2006).

9.1.1.1 Role EP1 receptorů při ateroskleróze

Prozatím nebyla odhalena žádná přímá souvislost mezi EP1 receptory a aterosklerózou. Nicméně jak imunochemicky, tak i imunofluorescenčně byla prokázána zvýšená exprese těchto receptorů v oblastech aterosklerotických plátů. Bylo potvrzeno, že některé v současné době dostupné léky, které jsou prospěšné při léčbě aterosklerózy, jako například statiny, snižují expresi EP1 receptorů v aterosklerotických plátech u pacientů s aterosklerózou karotid, a to částečně díky inhibici NF- κ B. Proto nelze plně vyloučit možnou úlohu EP1 receptorů při tomto onemocnění (Yang et al., 2011). Mimo to je pravděpodobné, že EP1 receptory nejsou exprimovány na lidských trombocytech, jelikož použití selektivních agonistů tohoto receptoru, jako například iloprost, nemělo žádný vliv na agregaci trombocytů. Z tohoto důvodu je pravděpodobné, že se EP1 receptory nijak nepodílejí na rozvoji atherotrombózy (Friedman et al., 2015; Yang et al., 2016).

9.1.1.2 Role EP2 receptorů při ateroskleróze

Expese EP2 receptorů je výrazně zvýšena v zánětlivých oblastech aterosklerotických plátů a jejich aktivace vede k rozvoji jak prozánětlivých, tak protizánětlivých účinků (Yang et al., 2011; Yang et al., 2016). EP2 receptory v aterosklerotických lézích mohou být aktivovány jak PGE₂, tak oxidovaným fosfolipidem PEIPC (1-palmitoyl-2-epoxyisoprostan-sn-glycero-3-fosforylcholin) (Yang et al., 2011). Tento oxidovaný fosfolipid PEIPC se podílí na klíčovém kroku vzniku aterosklerózy, při němž akumulace tohoto fosfolipidu a následná aktivace β 1 integrinu vyvolává adhezi monocytů k endotelovým buňkám aterosklerotických lézí (Jiang et al., 2013; Yang et al., 2011; Yang et al., 2016).

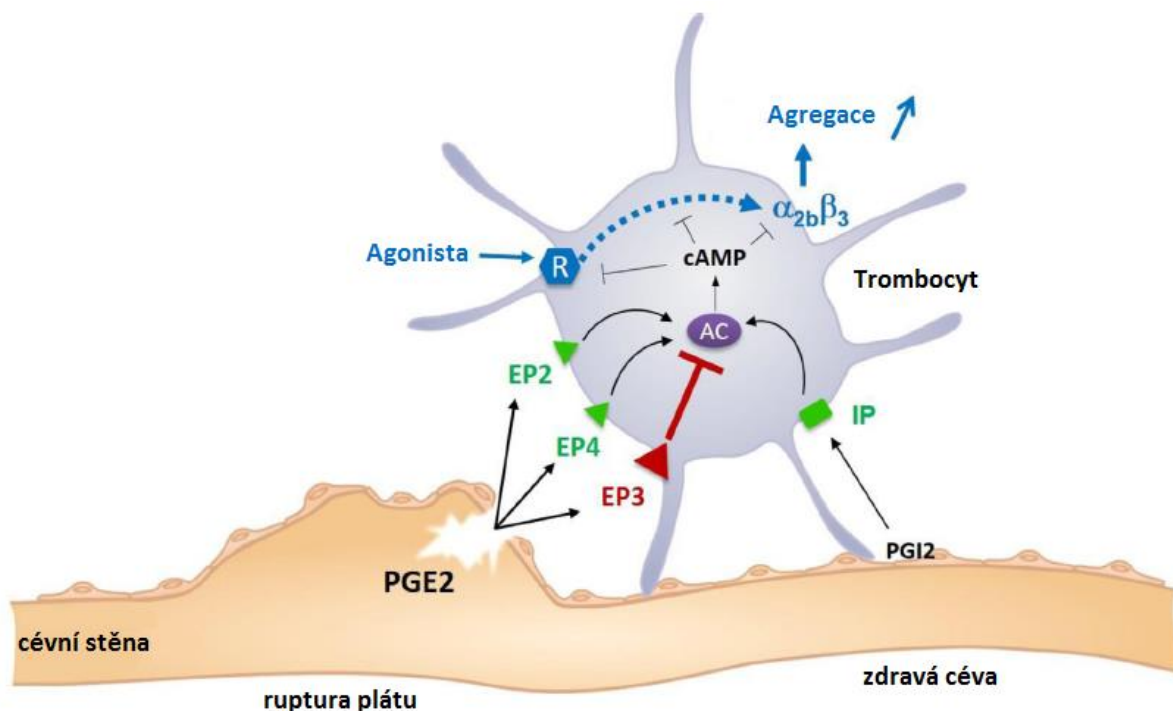
V prvotních fázích aterosklerózy mohou být EP2 receptory aktivovány oxidovaným fosfolipidem PEIPC, a to i v nepřítomnosti PGE₂. Aktivace těchto receptorů vede k rozvoji zánětu cévní stěny. Nicméně v pokročilejších stádiích aterosklerózy, při nichž se makrofágy hromadí v subendotelovém prostoru cévy, nemůže být aktivace EP2 receptoru navozena pouze oxidovaným fosfolipidem PEIPC, ale i PGE₂. Z tohoto důvodu interakce mezi oxidovaným fosfolipidem PEIPC a EP2 receptory a následná aktivace dráhy cAMP může poskytnout nový pohled na mechanismy, jakými se monocyty hromadí v zanícené tkáni. Z důvodů výše zmíněných účinků aktivace EP2 receptorů se tyto receptory mohou stát slibným farmakologickým cílem pro léčbu aterosklerózy a jiných zánětlivých onemocnění (Yang et al., 2011).

EP2 receptory jsou mimo jiné exprimovány také na trombocytech. Jejich aktivace vede ke stimulaci adenylátcyklázy a zvýšení produkce cAMP. Tento cAMP následně inhibuje uvolňování vápníku v cytosolu trombocytů a následkem toho dochází ke snížení odpovědi trombocytů. Z toho vyplývá, že stimulace EP2 receptorů vede k inhibici agregace trombocytů (Mawhin et al., 2015).

9.1.1.3 Role EP3 receptorů při ateroskleróze

PGE₂ ve spojení s aktivací EP3 receptorů je mediátorem, který spojuje chronický zánět s trombózou (Mawhin et al., 2015). Úloha EP3 receptorů při ateroskleróze je spojena s regulací agregace trombocytů, která přispívá k rozvoji atherotrombózy. Bylo prokázáno, že PGE₂ u myši podporuje agregaci trombocytů, a to cestou aktivace EP3 receptorů a následným snížením hladiny cAMP (Yang et al., 2011). Při studiích na EP3 deficitních myších byly pokusy spojeny s významným prodloužením doby krvácení a nedošlo k zesílení agregačního účinku trombocytů (Gresele et al., 2008). Dalšími studiemi *in vivo* s použitím selektivních agonistů EP3 receptorů, jako je například sulproston, bylo taktéž prokázáno zvýšení agregace trombocytů v reakci na agonistu (Friedman et al., 2015). Díky těmto zjištěním se v dnešní době antagonisté EP3 receptorů jeví jako potenciální nová antitrombotická léčiva (Philipose et al., 2010).

Mechanismus regulace funkce trombocytů prostřednictvím PGE₂ je uveden na obr. 9. Navázáním agonistů trombocytů na jejich specifické receptory dochází k aktivaci signální kaskády a vystavení integrinu $\alpha_{2b}\beta_3$, který je důležitý pro agregaci (Gross et al., 2007). Probíhající zánět v aterosklerotickém plátu vede k lokálnímu uvolnění PGE₂, který se váže a následně aktivuje receptory EP2, EP3 a EP4 na membráně trombocytu (Friedman et al., 2015; Gross et al., 2007). Aktivace EP2 a EP4 receptorů stimuluje adenylátcyklázu, která následně zvyšuje produkci cAMP, který má za následek inhibici uvolňování vápníku v cytosolu trombocytu a v důsledku toho dochází k inhibici agregace trombocytů. PGE₂ aktivuje také EP3 receptory, které naopak inhibují aktivitu adenylátcyklázy, ta poté snižuje tvorbu cAMP a tím dochází ke stimulaci agregace trombocytů (Friedman et al., 2015). Současně se v endotelových buňkách cévy syntetizuje PGI₂, který aktivací IP receptorů zvyšuje hladinu cAMP. Vzhledem k tomu, že inhibiční účinek EP3 receptorů převažuje nad EP2 a EP4 stimulačními účinky na adenylátcyklázu, je výsledný efekt směřován ku prospěchu EP3 receptorů (Friedman et al., 2015). Rovnováha mezi PGE₂ a PGI₂ ve výsledku určuje intracelulární úroveň cAMP. V konečném důsledku aterosklerotické pláty nebo záněty cévní stěny jiného původu navozují zvýšení agregace trombocytů prostřednictvím uvolňovaného PGE₂ (Gross et al., 2007).



Obrázek 9 Účinek prostaglandinu E₂ na funkci trombocytu (upraveno dle Mawhin et al., 2015)

Úloha EP3 receptorů je také spojena s ostatními kroky rozvoje aterosklerózy. PGE₂ pomocí těchto receptorů zesiluje účinky interleukinu 1 β , nutné k diferenciaci buněk hladkého svalstva cév, které přispívají k rozvoji aterosklerotického plátu (Yang et al., 2011). Mimo to EP3 receptory navozují vazokonstrikci a ovlivňují migraci buněk hladkého svalstva cév (Norel, 2007).

9.1.1.4 Role EP4 receptorů při ateroskleróze

EP4 receptory jsou považovány za nejhojněji se vyskytující receptory v aterosklerotických lézích (Yang et al., 2016). Zvýšená exprese těchto receptorů je spojena s destabilizací aterosklerotického plátu a rozvojem zánětu (Capra et al., 2013). PGE₂ může fungovat jako protizánětlivý mediátor, a to díky jeho schopnosti aktivovat EP4 receptory a potlačit tak produkci makrofágových chemokinů (Yang et al., 2011). Naproti tomu studie prováděné na EP4 receptorech makrofágů objevily jejich prozánětlivou roli v počátečních stádiích aterosklerózy, při nichž regulují produkci zánětlivých cytokinů, jako je interleukin 1 a interleukin 6 (Ricciotti et al., 2011). EP4 receptory jsou exprimovány také na trombocytech (Mawhin et al., 2015). Jejich aktivace vede k inhibici agregace trombocytů. Nicméně jejich účinek je plně potlačen účinkem EP3 receptorů vedoucím ke zvýšení agregace trombocytů (Friedman et al., 2015).

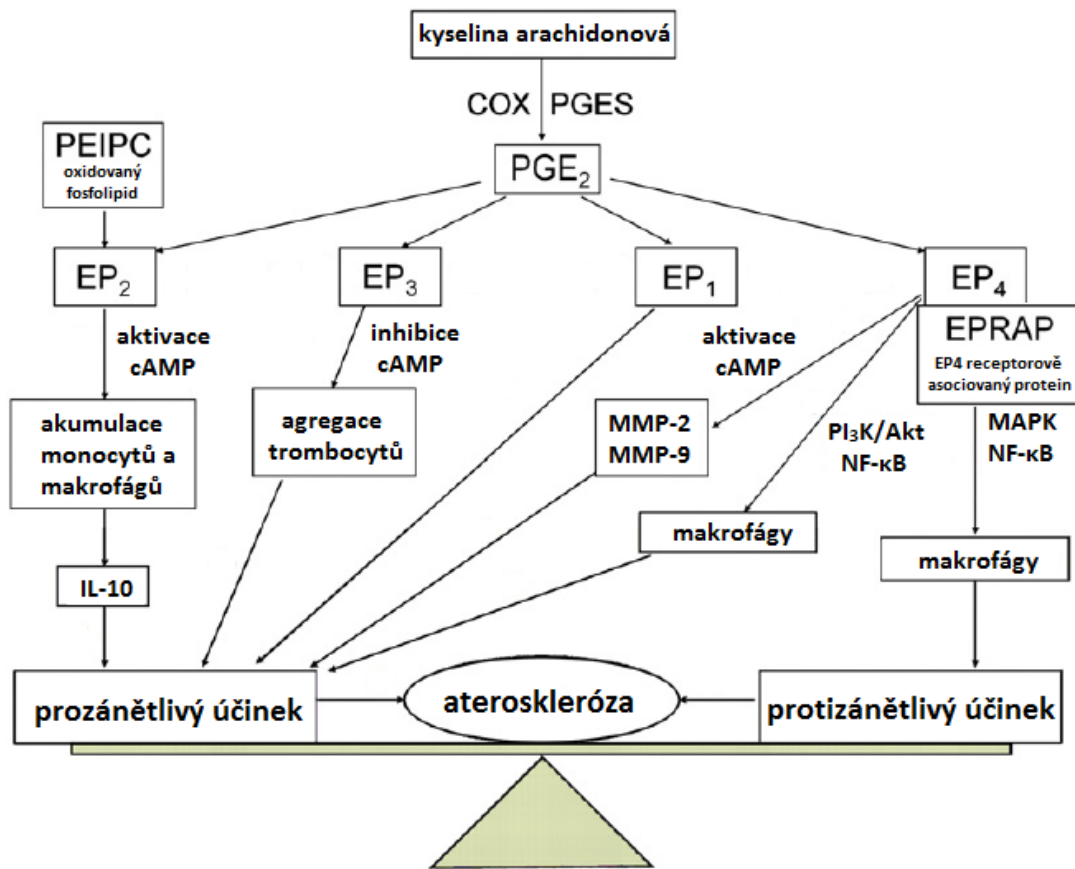
EP4 receptory mají relativně delší koncovou karboxylovou cytoplazmatickou doménu ve srovnání s ostatními receptory. Cytoplazmatický konec je schopen interagovat s EP4 receptorově asociovaným proteinem (EPRAP), který je důležitý pro rozvoj protizánětlivých funkcí EP4 receptorů makrofágů. V tomto případě signální dráha vede k útlumu aktivace NF- κ B a MAPK. To znamená, že EP4 receptory vykazují protizánětlivý účinek v patogenezi aterosklerózy, a to snížením aktivace NF- κ B (Yang et al., 2011).

Naproti tomu některé studie uvádějí, že nadměrná exprese EP4 receptorů v aterosklerotických plátech je spojena se zvýšenou zánětlivou reakcí, která by mohla přispět k destabilizaci plátu, a to zvýšením exprese matrixové metaloproteinázy (Norel, 2007). Bylo prokázáno, že zvýšená syntéza PGE₂ v makrofázích aterosklerotického plátu může zvýšit produkci MMP-2 a MMP-9 (Yang et al., 2011). Použitím agonisty EP4 receptorů, PGE₁-OH, došlo ke stimulaci exprese makrofágové MMP-9, zatímco produkce matrixové metaloproteinázy a chemokinů vyvolaná PGE₂ byla *in vitro* inhibována EP4 antagonistou L-161982 v mononukleárních fagocytech (Foudi et al., 2012; Yang et al., 2011). Tato zjištění naznačují, že EP4 receptory jsou schopny regulovat produkci matrixové metaloproteinázy. Následně bylo navrženo, že signální dráhy cAMP a proteinkinázy A se podílejí na produkci matrixové metaloproteinázy prostřednictvím EP4 receptorů, jelikož makrofágy reagovaly na aktivátory adenylátcyklázy nebo stimulanty proteinkinázy A zvýšením exprese MMP-9 (Yang et al., 2011).

Pozdější studie prokázaly, že aktivace EP4 receptorů a následné spuštění signální dráhy fosfatidylinositol-3-kinázy, proteinkinázy B (PI₃K/Akt) a NF- κ B inhibuje apoptózu makrofágů a napomáhá rozvoji časných fází aterosklerózy. Tyto účinky byly zjištěny použitím genetických a farmakologických inhibitorů EP4 receptorů na modelech myší, u kterých po použití těchto inhibitorů došlo ke stimulaci apoptózy makrofágů a významnému utlumení rozvoje časných fází aterosklerózy (Yang et al., 2011; Yang et al., 2016).

V časných fázích aterosklerózy může dráha COX-2/mPGES-1/EP4 působit protizánětlivě prostřednictvím inhibice uvolňování chemokinů makrofágů. V pozdějších stádiích aterosklerózy může být dráha COX-2/mPGES-1/EP4 zapojena do biosyntézy matrixové metaloproteinázy makrofágů aterosklerotického plátu, které pak napomáhají rozvoji prozánětlivých účinků. Bez ohledu na prozánětlivou nebo protizánětlivou funkci EP4 receptorů, může regulace EP4 receptorů poskytnout terapeutickou možnost při léčbě aterosklerózy a

regulaci stability aterosklerotického plátu (Yang et al., 2011). Na obr. 10 je znázorněn souhrn funkcí EP1, EP2, EP3 a EP4 receptorů při ateroskleróze.



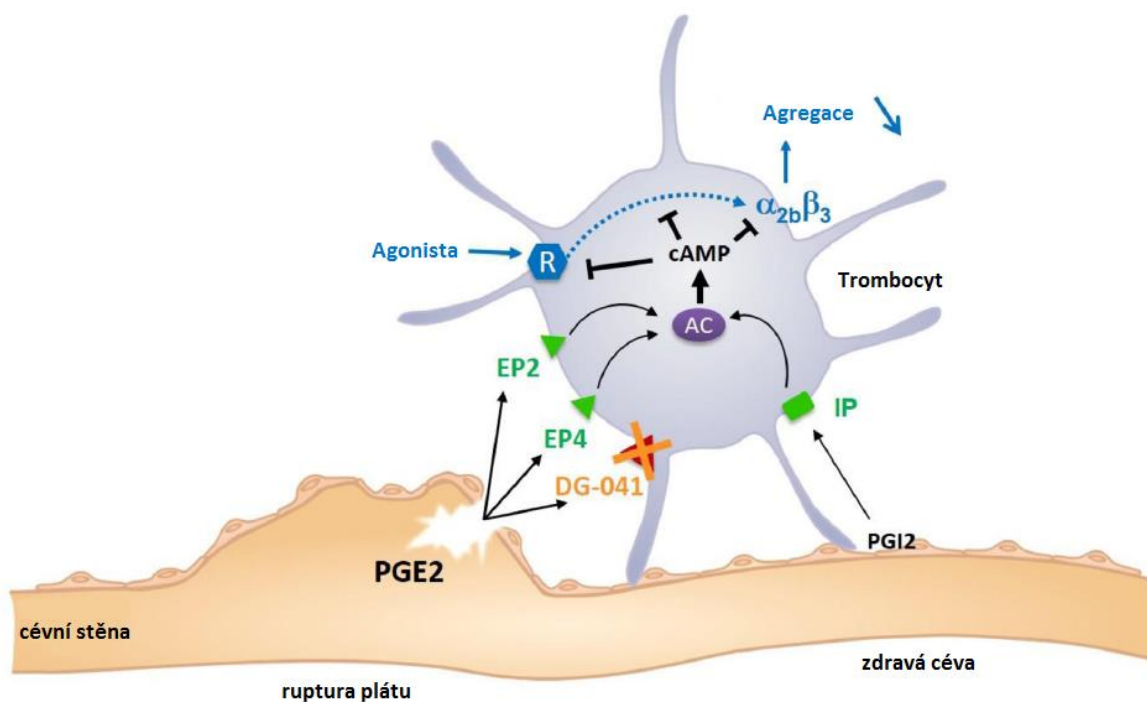
Obrázek 10 Souhrn funkcí EP1, EP2, EP3 a EP4 receptorů při ateroskleróze (upraveno dle Yang et al., 2011)

9.1.2 EP receptory jako terapeutické cíle při ateroskleróze

EP receptory vystupují jako důležité zánětlivé regulátory v patologickém procesu aterosklerózy a jsou považovány za nové terapeutické cíle při léčbě tohoto onemocnění (Yang et al., 2011).

Studium problematiky regulace agregace trombocytů prostřednictvím PGE₂ je poměrně populární v souvislosti s rozvojem nových inhibitorů trombocytů, které by napomáhaly při léčbě kardiovaskulárních chorob (Friedman et al., 2015). Příkladem takového inhibitoru je antagonist EP3 receptorů, jehož název je DG-041 (Yang et al., 2011). Jedná se o slibnou perorální terapeutickou látku, a to díky její schopnosti inhibovat agregaci trombocytů, aniž by jakýmkoliv způsobem prodlužovala dobu krvácení (Friedman et al., 2015). DG-041 byl testován na několika *in vivo* myších modelech trombózy, u nichž jeho podávání vedlo k výraznému omezení trombózy. Mimo to DG-041 výrazně snížil aterotrombózu, která

byla vyvolána mechanickým porušením aterosklerotického plátu u myši. Na obr. 11 je znázorněna inhibice EP3 receptoru pomocí antagonisty DG-041. Po navázání DG-041 na EP3 receptor trombocytu dochází k rozvoji inhibičních účinků EP2 a EP4 receptorů. Současné také dochází ke snížení citlivosti trombocytu na jeho agonisty, a to v důsledku kombinace blokace EP3 receptorů a současného rozvoje inhibičních účinků EP2 a EP4 receptorů. Použití antagonisty DG-041 má za následek inhibici agregace trombocytů (Mawhin et al., 2015).



Obrázek 11 Inhibice EP3 receptoru trombocytu pomocí antagonisty DG-041 (upraveno dle Mawhin et al., 2015)

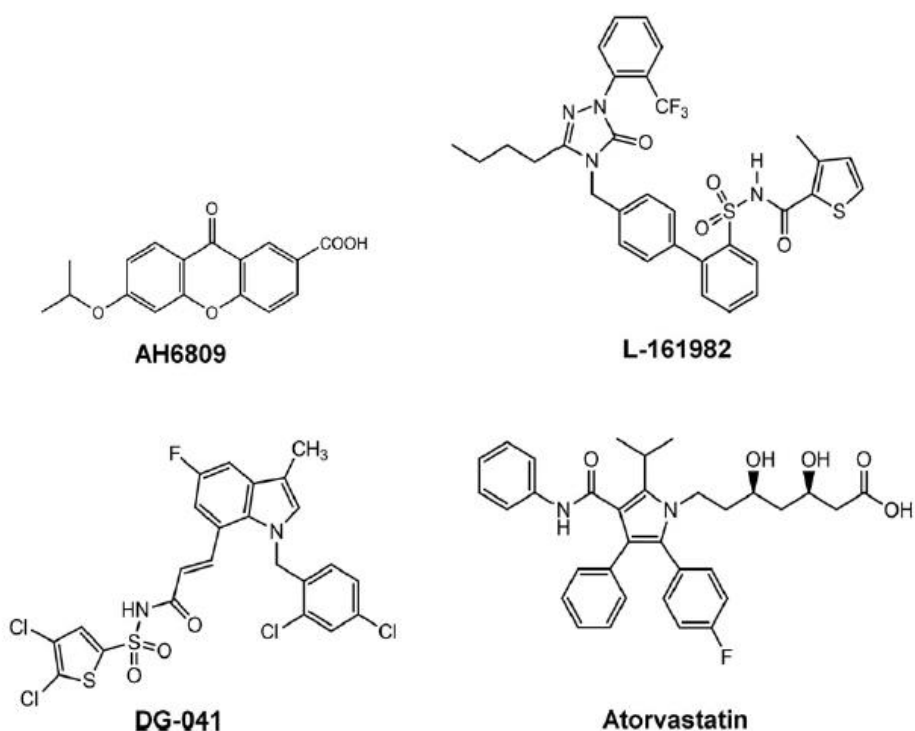
Regulace EP4 receptorů může také poskytnout terapeutickou možnost při rozvoji aterosklerózy a regulaci stability aterosklerotického plátu. Při farmakologických studiích byl testován antagonist EP4 receptorů, L-161982, který výrazně inhiboval expresi MMP-2 a MMP-9 v aterosklerotických plátech (Yang et al., 2011). Mimo to by agonisté EP4 receptorů mohly představovat novou třídu antitrombotických léčiv, a to z důvodu jejich silného inhibičního účinku na funkci trombocytů. Mohly by být užitečné v případech, kdy není možné použít kyselinu acetylsalicylovou nebo antagonisty ADP receptorů trombocytů (Philipose et al., 2010).

V případě EP2 receptorů byl syntetizován a použit antagonist AH6809, který je schopen inhibovat aktivaci EP2 receptorů a zablokovat odpověď interleukinu 10 na oxidovaný fosfolipid PEIPC v buňkách odvozených od monocytů (Yang et al., 2011).

Nejen EP receptory mohou být terapeutickým cílem výzkumů. Podrobná identifikace a lepší charakterizace mPGES-1 může napomoci rozvoji selektivních a silných inhibitorů této dráhy. Mikrosomální PGES-1 představuje slibný terapeutický cíl pro léčbu onemocnění souvisejících se záněty. Podobně slibným terapeutickým cílem mohou být i transportní proteiny MRP4 nebo PGTs (Norberg et al., 2013).

V dnešní době se běžně k léčbě aterosklerózy používají různé druhy léčiv, například atorvastatin, jehož užívání vede mimo jiné i ke snížení exprese EP1, EP3 a EP4 receptorů v aterosklerotických plátech pacientů s aterosklerózou karotid. Mimo to atorvastatin v kultivovaných monocytech výrazně snižuje expresi COX-2, mPGES-1, MMP-9 a hladinu prozánětlivých látek, jako je interleukin 1 a tumor nekrotizující faktor α (Yang et al., 2011). Na obr. 12 jsou uvedeny chemické struktury atorvastatinu a antagonistů EP receptorů.

Závěrem lze říci, že další podrobné studie EP receptorů a syntéza nových látek, které budou schopny regulovat mechanismy těchto receptorů, mohou vést k vývoji nových terapeutických postupů při léčbě aterosklerózy (Yang et al., 2011).



Obrázek 12 Chemická struktura atorvastatinu a antagonistů EP receptorů (upraveno dle Yang et al., 2011)

10 ZÁVĚR

Prostaglandin E_2 je v lidském organismu syntetizován z kyseliny arachidonové cyklooxygenázovou cestou, která zahrnuje sled reakcí katalyzovaných cyklooxygenázami a prostaglandin syntázami. Jeho účinky v lidském organismu jsou spojeny s aktivací specifických EP1, EP2, EP3 nebo EP4 receptorů. Jelikož se prostaglandin E_2 zapojuje do regulace funkcí většiny orgánových soustav je aktivace jeho specifických receptorů spojena s rozmanitou škálou účinků.

Jednou z důležitých úloh prostaglandinu E_2 je schopnost regulovat průběh zánětu. Jako mediátor se zapojuje do prozánětlivých i protizánětlivých procesů. Je schopen navodit vasodilataci a prostřednictvím aktivace EP3 receptorů žírných buněk zvyšovat cévní permeabilitu. Tyto změny vedou k rozvoji otoku a zarudnutí v místě poškození tkáně. Mimo to je prostaglandin E_2 schopen regulovat T-lymfocyty, produkci cytokinů, stimulovat nociceptivní dráhy a vést tak k rozvoji bolesti.

Prostaglandin E_2 je také klíčovým mediátorem zánětlivých procesů kardiovaskulárního systému. Regulací svých specifických receptorů se zapojuje do progresu aterosklerózy. V průběhu tohoto chronického onemocnění se podílí na prozánětlivých i protizánětlivých procesech. Reguluje rozvoj zánětu, je spojen s destabilizací aterosklerotického plátu, stimuluje expresi matrixové metaloproteinázy a v neposlední řadě reguluje produkci cytokinů a chemokinů. V závislosti na typu receptoru dochází k rozvoji určitého účinku. V případě EP1 receptorů nebyla doposud objevena přímá souvislost těchto receptorů s aterosklerózou, nicméně jejich exprese je v místech aterosklerotických plátů zvýšená. Jednou z hlavních úloh prostaglandinu E_2 při ateroskleróze je schopnost regulovat trombocyty, jejichž součástí jsou EP2, EP3 a EP4 receptory. Aktivace EP2 a EP4 receptorů vede k inhibici agregace trombocytů, kdežto aktivace EP3 receptorů navozuje stimulaci agregace trombocytů. Nicméně účinek EP2 a EP4 receptorů je plně potlačen účinkem receptorů EP3. V důsledku toho prostaglandin E_2 přispívá v průběhu aterosklerózy k rozvoji atherotrombózy.

V současné době se EP receptory stávají slibným cílem pro syntézu nových léčiv. Vývoj antagonistů EP3 receptorů nebo agonistů EP4 receptorů umožňuje rozvoj nových antiagregancií, zatímco antagonisté EP4 receptorů poskytují nové terapeutické cíle při regulaci rozvoje aterosklerózy a stability aterosklerotického plátu. Mechanismus regulace EP receptorů je dnes často studovanou oblastí a její podrobné prozkoumání může vést k rozvoji nových a účinných terapeutických postupů při léčbě aterosklerózy a jiných onemocnění.

11 POUŽITÁ LITERATURA

AOKI, T. a NARUMIYA, S. Prostaglandins and chronic inflammation. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2012, 33(6), s. 304-311.

ASTUDILLO, A. M.; BALGOMA, D.; BALBOA, M. A. a BALSINDE, J. Dynamics of arachidonic acid mobilization by inflammatory cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2012, 1821(2), s. 249-256.

BABAEV, V. R.; CHEW, J. D. a DING, L. Macrophage EP4 Deficiency Increases Apoptosis and Suppresses Early Atherosclerosis. *Cell Metabolism*, 2008, 8(6), s. 492-501.

BAGLI, J. F.; BOGRI, T. a DEGHENGI, R. Prostaglandins I – total synthesis of 9 β ,15 ξ -dihydroxyprost-13-enoic acid. *Tetrahedron Letters*, 1966, 5, s. 465-470.

BASKETT, T. F. The development of prostaglandins. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2003, 17(5), s. 703-706.

BOS, C. L.; RICHEL, D. J.; RITSEMA, T.; PEPPELENBOSCH, M. P. a VERSTEEG, H. H. Prostanoids and prostanoid receptors in signal transduction. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2004, 36(7), s. 1187-1205.

BUCKLEY, CH. D.; GILROY, D. W. a SERHAN, CH. N. Proresolving Lipid Mediators and Mechanisms in the Resolution of Acute Inflammation. *Immunity*, 2014, 40(3), s. 315-327.

CALDER, P. C. Dietary arachidonic acid: harmful, harmless or helpful? *British Journal of Nutrition*, 2007, 98(03), s. 451-453.

CAPRA, V.; BÄCK, M.; BARBIERI, S. S.; CAMERA, M.; TREMOLI, E. a ROVATI, G. E. Eicosanoids and Their Drugs in Cardiovascular Diseases: Focus on Atherosclerosis and Stroke. *Medicinal Research Reviews*, 2013, 33(2), s. 364-438.

DAS, U. Essential Fatty Acids – A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2006, 7(6), s. 467-482.

- DUFFY, D. M. Novel contraceptive targets to inhibit ovulation: the prostaglandin E2 pathway. *Human Reproduction Update*, 2015, 21(5), s. 652-670.
- EULER, U. S. von. History and development of prostaglandins. *General Pharmacology*, 1983, 14, s. 3-6.
- EULER, U. S. von. Prostaglandin, historical remarks. *Progress in lipid research*, 1981, 20, s. xxxi-xxxv.
- FERRERI, C.; MASI, A.; SANSONE, A.; GIACOMETTI, G.; LAROCCA, A. V.; MENOUNOU, G. a CHATGILIALOGLU, CH. Fatty Acids in Membranes as Homeostatic, Metabolic and Nutritional biomarkers: Recent Advancements in Analytics and Diagnostics. *Diagnostics*, 2017, 7, s. 1.
- FOUDI, N.; GOMEZ, I.; BENYAHIA, CH.; LONGROIS, D. a NOREL, X. Prostaglandin E2 receptor subtypes in human blood and vascular cells. *European Journal of Pharmacology*, 2012, 695(1-3), s. 1-6.
- FREIRE, M. O. a VAN DYKE, T. E. Natural resolution of inflammation. *Periodontology 2000*, 2013, 63(1), s. 149-164.
- FRIEDMAN, E. A.; OGLETREE, M. L.; HADDAD, E. V. a BOUTAUD, O. Understanding the role of prostaglandin E2 in regulating human platelet activity in health and disease. *Thrombosis Research*, 2015, 136(3), s. 493-503.
- GILROY, D. W. Eicosanoids and the endogenous control of acute inflammatory resolution. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, 42(4), s. 524-528.
- GOMEZ, I.; FOU DI, N.; LONGROIS, D. a NOREL, X. The role of prostaglandin E2 in human vascular inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 2013, 89(2-3), s. 55-63.
- GÓMEZ-HERNÁNDEZ, A.; MARTÍN-VENTURA, J. L. a SÁNCHEZ-GALÁN, E. Overexpression of COX-2, Prostaglandin E Synthase-1 and Prostaglandin E Receptors in blood mononuclear cells and plaque of patients with carotid atherosclerosis: Regulation by nuclear factor- κ B. *Atherosclerosis*, 2006, 187(1), s. 139-149.

- GRESELE, P.; FALCINELLI, E. a MOMI, S. Potentiation and priming of platelet activation: a potential target for antiplatelet therapy. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2008, 29(7), s. 352-360.
- GROSS, S.; TILLY, P.; HENTSCH, D.; VONESCH, J.-L. a FABRE, J.-E. Vascular wall-produced prostaglandin E2 exacerbates arterial thrombosis and atherothrombosis through platelet EP3 receptors. *The Journal of Experimental Medicine*, 2007, 204(2), s. 311-320.
- GRYGLEWSKI, R. J. Prostacyclin among prostanoids. *Pharmacological Reports*, 2008, 60, s. 3-11.
- HADLEY, K. B.; RYAN, A. S.; FORSYTH, S.; GAUTIER, S. a SALEM, N. Jr. The Essentiality of Arachidonic Acid in Infant Development. *Nutrients*, 2016, 8, s. 216.
- HAMMOND, V. J. a O'DONNELL, V. B. Esterified eicosanoids: Generation, characterization and function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2012, 1818(10), s. 2403-2412.
- HANSSON, G. K. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*, 2005, 352(16), s. 1685-1695.
- HARA, S.; KAMEI, D.; SASAKI, Y.; TANEMOTO, A.; NAKATANI, Y. a MURAKAMI, M. Prostaglandin E synthases: Understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models. *Biochimie*, 2010, 92(6), s. 651-659.
- HARIZI, H.; CORCUFF, J.-B. a GUALDE, N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends in Molecular Medicine*, 2008, 14(10), s. 461-469.
- CHEN, L.; YANG, G. a GROSSER, T. Prostanoids and inflammatory pain. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2013, 104-105, s. 58-66.
- IEZZI, A.; FERRI, C.; MEZZETTI, A. a CIPOLLONE, F. COX-2: Friend or Foe? *Current Pharmaceutical Design*, 2007, 13(16), s. 1715-1721.

JIANG, J. a DINGLELINE, R. Prostaglandin receptor EP2 in the crosshairs of anti-inflammation, anti-cancer, and neuroprotection. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2013, 34(7), s. 413-423.

KALINSKI, P. Regulation of Immune Responses by Prostaglandin E2. *Journal of immunology*, 2012, 188(1), s. 21-28.

KAWABATA, A. Prostaglandin E2 and Pain – An Update. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2011, 34(8), s. 1170-1173.

KAWAHARA, K.; HOHJOH, H.; INAZUMI, T.; TSUCHIYA, S. a SUGIMOTO, Y. Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance of prostaglandin E receptors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2015, 1851(4), s. 414-421.

KOEBERLE, A. a WERZ, O. Perspective of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 as drug target in inflammation-related disorders. *Biochemical Pharmacology*, 2015, 98(1), s. 1-15.

KONYA, V.; MARSCHE, G.; SCHULIGOI, R. a HEINEMANN, A. E-type prostanoid receptor 4 (EP4) in disease and therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013, 138(3), s. 485-502.

LAWRENCE, T. a FONG, C. The resolution of inflammation: Anti-inflammatory roles for NF- κ B. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, 42(4), s. 519-523.

LE, H. D.; MEISEL, J. A.; DE MEIJER, V. E.; GURA, K. M. a PUDER, M. The essentiality of arachidonic acid and docosahexaenoic acid. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2009, 81(2-3), s. 165-170.

LEGLER, D. F.; BRUCKNER, M.; UETZ-VON ALLMEN, E. a KRAUSE, P. Prostaglandin E2 at new glance: Novel insights in functional diversity offer therapeutic chances. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010, 42(2), s. 198-201.

LINTON, M. R. F. a FAZIO, S. Cyclooxygenase products and atherosclerosis. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 2008, 5(1), s. 25-36.

LUO, P. a WANG, M.-H. Eicosanoids, β -Cell Function, and Diabetes. *Prostaglandins and other lipid mediators*, 2011, 95(1-4), s. 1-10.

MARKOVIČ, T.; JAKOPIN, Ž.; DOLENC, M. S. a MLINARIČ-RAŠČAN, I. Structural features of subtype-selective EP receptor modulators. *Drug Discovery Today*, 2017, 22(1), s. 57-71.

MAWHIN, M.-A.; TILLY, P. a FABRE, J.-E. The receptor EP3 to PGE2: A rational target to prevent atherothrombosis without inducing bleeding. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2015, 121, s. 4-16.

MEIRER, K.; STEINHILBER, D. a PROSCHAK, E. Inhibitors of the Arachidonic Acid Cascade: Interfering with Multiple Pathways. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2014, 114(1), s. 83-91.

MICHALAK, A.; MOSIŃSKA, P. a FICHNA, J. Polyunsaturated Fatty Acids and Their Derivatives: Therapeutic Value for Inflammatory, Functional Gastrointestinal Disorders, and Colorectal Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 2016, 7, s. 459.

MILLER, S. B. Prostaglandins in Health and Disease: An Overview. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 2006, 36(1), s. 37-49.

MURAKAMI, M. a KUDO, I. Recent advances in molecular biology and physiology of the prostaglandin E2-biosynthetic pathway. *Progress in Lipid Research*, 2004, 43(1), s. 3-35.

NAKANISHI, M. a ROSENBERG, D. W. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer. *Seminars in Immunopathology*, 2013, 35(2), s. 123-137.

NICOLAOU, A. Eicosanoids in skin inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 2013, 88(1), s. 131-138.

NORBERG, J. K.; SELLS, E.; CHANG, H. H.; ALLA, S. R.; ZHANG, S. a MEUILLET, E. J. Targeting inflammation: multiple innovative ways to reduce prostaglandin E2. *Pharmaceutical patent analyst*, 2013, 2(2), s. 265-288.

NOREL, X. Prostanoid Receptors in the Human Vascular Wall. *The Scientific World JOURNAL*, 2007, 7, s. 1359-1374.

O'CALLAGHAN, G. a HOUSTON, A. Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets? *British Journal of Pharmacology*, 2015, 172(22), s. 5239-5250.

PANG, L.; CAI, Y.; TANG, E. H. CH.; IRWIN, M. G.; MA, H. a XIA, Z. Prostaglandin E Receptor Subtype 4 Signaling in the Heart: Role in Ischemia/Reperfusion Injury and Cardiac Hypertrophy. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 2016, s. 1-10.

PARK, J. Y.; PILLINGER, M. H. a ABRAMSON, S. B. Prostaglandin E2 synthesis and secretion: The role of PGE2 synthases. *Clinical Immunology*, 2006, 119(3), s. 229-240.

PATRIGNANI, P. a PATRONO, C. Cyclooxygenase inhibitors: From pharmacology to clinical read-outs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2015, 1851(4), s. 422-432.

PATRONO, C. a ROCCA, B. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: Past, present and future. *Pharmacological Research*, 2009, 59(5), s. 285-289.

PHILIPOSE, S.; KONYA, V.; SRECKOVIC, I.; MARSCHE, G.; LIPPE, I. T.; PESKAR, B. A.; HEINEMANN, A. a SCHULIGOI, R. The Prostaglandin E2 Receptor EP4 Is Expressed by Human Platelets and Potently Inhibits Platelet Aggregation and Thrombus Formation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2010, 30(12), s. 2416-2423.

RÅDMARK, O.; WERZ, O.; STEINHILBER, D. a SAMUELSSON, B. 5-Lipoxygenase, a key enzyme for leukotriene biosynthesis in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2015, 1851(4), s. 331-339.

READER, J.; HOLT, D. a FULTON, A. Prostaglandin E2 EP receptors as therapeutic targets in breast cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 2011, 30(3-4), s. 449-463.

REGAN, J. W. EP2 and EP4 prostanoid receptor signaling. *Life Sciences*, 2003, 74(2-3), s. 143-153.

- RICCIOTTI, E. a FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2011, 31(5), s. 986-1000.
- RODRIGUEZ-VITA, J. a LAWRENCE, T. The resolution of inflammation and cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2010, 21(1), s. 61-65.
- ROMANO, M. Lipoxin and Aspirin-Triggered Lipoxins. *The Scientific World JOURNAL*, 2010, 10, s. 1048-1064.
- RUSSEL, F.; KOENDERINK, J. a MASEREEUW, R. Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2008, 29(4), s. 200-207.
- RYAN, A. a GODSON, C. Lipoxins: regulators of resolution. *Current Opinion in Pharmacology*, 2010, 10(2), s. 166-172.
- SAKATA, D.; YAO, CH. a NARUMIYA, S. Prostaglandin E2, an Immunoactivator. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2010, 112, s. 1-5.
- SANDER, W. J.; O'NEILL, H. G. a POHL, C. H. Prostaglandin E2 As a Modulator of Viral Infections. *Frontiers in Physiology*, 2017, 8, s. 89.
- SANCHEZ SANTANA, M. A.; AUPET, J.-B.; BETBEDER, M.-L.; LAPAYRE, J.-CH. a CAMARENA, A. A Tool for Telediagnosis of Cardiovascular Diseases in a Collaborative and Adaptive Approach. *Journal of Universal Computer Science*, 2013, 19, s. 1275-1294.
- SCHOBBER, L. J.; KHANDOGA, A. L.; DWIVEDI, S.; PENZ, S. M.; MARUYAMA, T.; BRANDL, R. a SIESS, W. The role of PGE2 in human atherosclerotic plaque on platelet EP3 and EP4 receptor activation and platelet function in whole blood. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 2011, 32(2), s. 158-166.
- SCHUSTER, V. L. Prostaglandin transport. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2002, 68-69, s. 633-647.

- SODHI, K.; WU, C.-C. a CHENG, J. CYP4A2-Induced Hypertension Is 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid – and Angiotensin II-Dependent. *Hypertension*, 2010, 56(5), s. 871-878.
- STABLES, M. J. a GILROY, D. W. Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. *Progress in Lipid Research*, 2011, 50(1), s. 35-51.
- STEHLE, R. G. Physical chemistry, stability, and handling of prostaglandins E2, F2 α , D2, and I2: A critical summary. *Methods in Enzymology*, 1982, 86, s. 436-458.
- STEINBERG, D.; VAUGHAN, M.; NESTEL, P. J.; STRAND, O. a BERGSTÖRM, S. Effects of the Prostaglandins on Hormone-induced Mobilization of Free Fatty Acids. *Journal of Clinical Investigation*, 1964, 43, s. 8.
- SUZUKI, J.; OGAWA, M.; WATANABE, R.; TAKAYAMA, K.; HIRATA, Y.; NAGAI, R. a ISOBE, M. Roles of Prostaglandin E2 in Cardiovascular Diseases. *International Heart Journal*, 2011, 52(5), s. 266-269.
- SZEFEL, J.; KRUSZEWSKI, W. J. a SOBCZAK, E. Factors Influencing the Eicosanoids Synthesis In Vivo. *BioMed Research International*, 2015, 2015, s. 1-6.
- TAI, H.; CHO, H.; TONG, M. a DING, Y. NAD⁺-Linked 15-Hydroxyprostaglandin Dehydrogenase: Structure and Biological Functions. *Current Pharmaceutical Design*, 2006, 12(8), s. 955-962.
- TAKEUCHI, K.; KATO, S. a AMAGASE, K. Prostaglandin EP Receptors involved in Modulating Gastrointestinal Mucosal Integrity. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2010, 114, s. 248-261.
- TANG, E. H. C.; LIBBY, P.; VANHOUTTE, P. M. a XU, A. Anti-inflammation Therapy by Activation of Prostaglandin EP4 Receptor in Cardiovascular and Other Inflammatory Diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2012, 59(2), s. 116-123.

TYLER, J. K. a FULTON, A. M. Multiple Drug Resistance-Associated Protein 4 (MRP4), Prostaglandin Transporter (PGT), and 15-Hydroxyprostaglandin Dehydrogenase (15-PGDH) as Determinants of PGE2 Levels in Cancer. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 2015, 0, s. 99-103.

WANG, M.; SONG, W.-L.; CHENG, Y. a FITZGERALD, G. A. Microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibition in cardiovascular inflammatory disease. *Journal of Internal Medicine*, 2008, 263(5), s. 500-505.

WIKTOROWSKA-OWCZAREK, A.; BEREZIŃSKA, M. a NOWAK, J. PUFAs: Structures, Metabolism and Functions. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2015, 24(6), s. 931-941.

YANG, C.; LIU, X.; CAO, Q.; LIANG, Q. a QIU, X. Prostaglandin E receptors as inflammatory therapeutic targets for atherosclerosis. *Life Sciences*, 2011, 88(5-6), s. 201-205.

YANG, G. a CHEN, L. An Update of Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 and PGE 2 Receptors in Cardiovascular Health and Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016, s. 1-9.

YANG, T. a DU, Y. Distinct Roles of Central and Peripheral Prostaglandin E2 and EP Subtypes in Blood Pressure Regulation. *American Journal of Hypertension*, 2012, 25(10), s. 1042-1049.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S. a MOSTOFSKY, D. I. Essential fatty acids and the brain: From infancy to aging. *Neurobiology of Aging*, 2005, 26(1), s. 98-102.

YUHKI, K.; KOJIMA, F.; KASHIWAGI, H.; KAWABE, J.; FUJINO, T.; NARUMIYA, S. a USHIKUBI, F. Roles of prostanoids in the pathogenesis of cardiovascular diseases: Novel insights from knockout mouse studies. *Pharmacology & Therapeutics*, 2011, 129(2), s. 195-205.

ZIMECK, M. Potential therapeutic interventions via EP2/EP4 prostaglandin receptors. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej*, 2012, 66, s. 287-294.

ZIPSER, R. D. a LAFFI, G. Prostaglandins, thromboxanes and leukotrienes in clinical medicine [Medical Progress]. *The Western Journal of Medicine*, 1985, 143, s. 485-497.