

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických vied

Kandidát: Terézia Kamasová

Školiteľ: Doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Prof. Alice Santos-Silva

Maria João Valente, Ph.D.

Univerzita Porto

Farmaceutická fakulta

Katedra biologických vied

Názov diplomovej práce: **Účinky 3-hydroxytyrosolu na renálnu hypoxiu a zánět *in vitro***

Chronické zlyhanie obličiek je spôsobené heterogénnou skupinou ochorení postihujúcich obličky. Renálna hypoxia a hypoxiou-vyvolaný oxidatívny stres, renálna fibróza a zápal, sú veľmi častými sprievodnými javmi v postihnutej obličke, prispievajúcimi k zhoršovaniu chronického zlyhania obličiek. Látky rastlinného pôvodu sú neoddeliteľnou súčasťou modernej medicíny v terapii rôznych ochorení. 3-Hydroxytyrosol, fenolická zlúčenina získaná extrakciou z olív a olivových produktov ako napríklad olivový olej, je nositeľom silnej antioxidantnej, protizápalovej, antitrombotickej, baktericídnej a baktériostatickej aktivity. Cieľom tejto práce bolo stanoviť preventívny efekt 3-hydroxytyrosolu v renálnych bunkách a určiť jeho efekt na hypoxiou-vyvolaný zápal, oxidatívny stres a renálnu fibrózu a tak zhrnúť prínos tejto fenolickej zlúčeniny ako sľubného moderného terapeutického prístupu v liečbe chronického zlyhania obličiek. Na skúmanie efektu chemicky-indukovanej hypoxie a hypoxiou vyvolaného zápalu, oxidatívneho stresu, fibrózy a bunkovej smrti a na skúmanie *in vitro* efektu hydroxytyrosolu v týchto podmienkach bola použitá bunecná línia ľudských proximálnych tubulárnych buniek (HK-2). Ako induktor hypoxie bol použitý chlorid kobaltnatý. Jeho optimálna koncentrácia pre nasledujúce pokusy bola stanovená pomocou testu MTT, na zistenie životaschopnosti buniek v jeho prítomnosti, pomocou prietokovej cytometrie, na stanovenie spotreby kyslíka v bunkách a pomocou qPCR analýzy exprese s hypoxiou súvisiacich génov. Na zhodnotenie efektu 3-hydroxytyrosolu na hypoxiu v HK-2 bunkách boli ako ukazovatele oxidatívneho stresu zvolené produkcia kyslíkových a dusíkových radikálov, a hodnota glutatiónu. Expresia génov súvisiacich s hypoxiou bola taktiež stanovená pomocou qPCR. Aktivácia procesu autofágie bola potvrdená pomocou tvorby kyslých vezikúl zafarbených akridínovou oranžovou pozorovaním pod fluorescenčným mikroskopom a kvantifikovaním prietokovou cytometriou. 3-Hydroxytyrosol vykazoval len nevýrazný preventívny efekt na hypoxiou-vyvolanú bunkovú smrť. Významný efekt mal 3-hydroxytyrosol na oxidatívny stres, ako aj na expresiu génov súvisiacich s hypoxiou (*GAPDH*), zápalom (*IL6*) a renálnou fibrózou (*TGFβ1*). Zo získaných výsledkov vyplýva, že 3-hydroxytyrosol môže do budúcnosti predstavovať vhodný terapeutický prístup v liečbe chronického obličkového zlyhania, ďalšie štúdie sú však potrebné na potvrdenie tejto hypotézy.