

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Michaela Smolíková, DiS.

Školitel: doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Michaela Šadibolová

Název diplomové práce: Účinek isomerů kafru na expresi biotransformačních enzymů v lidských jaterních buňkách

Kafr je cyklický keton ze skupiny monoterpenů. V přírodě se vyskytují dva isomery kafru. V dnešní době se kafr využívá jako antiseptikum, analgetikum, rubefaciens i jako protizánětlivý přípravek. Kafr se užívá zejména v přípravcích pro lokální užití, kde působí mírným znečítlivujícím účinkem a pocitem tepla spolu s jeho charakteristicky pronikavou svěží vůní. Většina intoxikací kafrem je vyvolána nesprávným použitím či dávkováním. Cílem diplomové práce bylo zjistit účinek isomerů (+)-kafru a (-)-kafru na expresi vybraných enzymů I. i II. fáze biotransformace. Biologickým materiálem byly ultratenké lidské jaterní řezy připravené z tkáně celkem tří pacientů, dvou mužů a jedné ženy ve věkovém rozmezí 46 - 49 let. Jaterní řezy byly inkubovány s 10 μM a 50 μM (+)-kafrem a (-)-kafrem 24 hodin při 37°C. Proteinová exprese enzymů I. fáze (cytochromu P450 (CYP) 3A4, CYP2C, aldo-ketoreduktasy (AKR) 1C3) a II. fáze (glutathion-S-transferasy (GST) A) byla stanovena metodou western blotingu. Exprese mRNA enzymů I. fáze (CYP3A4, CYP1A2, CYP2C, CYP2B6, AKR1C a NAD(P)H-chinonoxidoreduktasy (NQO1) a II. fáze (GSTA1, GSTP1, UDP-glukuronosyltransferasy (UGT) 1A6 a sulfottransferasy (SULT) 1A1) byla stanovena pomocí polymerasové řetězové reakce v reálném čase. K nejvýznamnějším změnám na úrovni proteinu došlo u pacienta 48, kde byla patrná indukce CYP3A4 ((+)-kafr 10 a 50 μM) a inhibice CYP2C a AKR1C3 (+)-kafr 50 μM , ((-)-kafr 10 a 50 μM). Na úrovni mRNA byla zaznamenána indukce několika enzymů (-)-kafrem 50 μM u pacienta L48 (CYP3A4, AKR1C, GSTA a UGT1A6) a (+)-kafrem 50 μM u pacienta L49 (NQO1). Oba isomery v obou koncentracích způsobily inhibici mRNA GSTP1 (pacient L48) a SULT1A1 (pacient L49). Kafr by tedy mohl ovlivnit účinnost současně podaných léčiv.