

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Barbora Fiklíková

Školitel: prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Název diplomové práce: Vliv inhibice branebrutinibu na aktivitu vybraných reduktas z nadrodiny AKR a SDR.

Akutní myeloidní leukemie (AML) je spolu s dalšími nádorovými onemocněními velmi častým zdravotním problémem nejen v České republice, ale po celém světě. Na tyto nemoci neexistuje stoprocentní léčba a každý rok tak připraví o život miliony lidí.

Již po několik desítek let se k léčbě AML využívají antracyklinová antibiotika (ANT), například daunorubicin v kombinaci s dalšími cytostatiky. Nicméně i tato léčiva mají své problémy. Jedním z nich je jejich toxicita pro buňky organismu, zejména kardiomyocyty, způsobena jednak inhibicí topoizomerasy 2 β a jednak iniciací vzniku reaktivních forem kyslíku. Druhým problémem je narůstající rezistence nádorových buněk vůči ANT.

ANT jsou karbonyl redukujícími enzymy metabolizovány na příslušné alkoholy, které mají snížený účinek proti nádorovým buňkám, a naopak zvýšenou toxicitu proti buňkám srdce. Inhibicí těchto enzymů by bylo možné dosáhnout lepších terapeutických výsledků.

Jedním z potenciálních inhibitorů by mohl být branebrutinib (BRA). Je to inhibitor Brutonovy tyrosinkinasy, používaný k léčbě imunitně podmíněných a zánětlivých onemocnění a B-buněčných malignit, konkrétně například revmatoidní artritidy, lupusu a dalších onemocnění.

Předmětem této práce bylo zjistit, zdali BRA inhibuje některou z vybraných reduktas, určit IC_{50} , kinetické parametry a typ inhibice u nejvíce inhibovaného enzymu.

BRA nejúčinněji inhiboval AKR1C3. Zde byla inhibice u 10 μM BRA až 77,24 % a u 50 μM BRA 91,79 %. O něco méně inhiboval AKR1B10, kde byla inhibice u 10 μM BRA 62,97 % a u 50 μM BRA 81,75 %. U ostatních testovaných enzymů vykazoval BRA pouze nízký inhibiční potenciál a nemělo tedy smysl s nimi pokračovat v dalších experimentech.

Pro AKR1C3 byla zjištěna IC_{50} 2,65 μM . Inhibiční konstanta K_i dosahovala hodnoty 3,08 μM . Z grafického vynesení dle Lineweavera a Burka byl určen nekompetitivní typ inhibice. Posouzením intenzity vazby inhibitoru k enzymu se prokázalo, že se inhibitor na enzym váže reverzibilně. Pro AKR1B10 byla průměrná IC_{50} 5,62 μM a hodnota K_i dosahovala 6,40 μM . Opět byla inhibice nekompetitivní a BRA se na enzym vázal reverzibilně.

Na základě výsledků by BRA mohl díky inhibici AKR1C3 a AKR1B10 zlepšovat terapeutické účinky daunorubicinu. In vitro experimenty s rekombinantními proteiny bude nutné doplnit i o další s relevantními buněčnými liniemi.