

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Jitka Tumpachová

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Miloslav Macháček, Ph.D.

Konzultant: pplk. doc. MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D. et Ph.D.

Název diplomové práce: Modulace protizánětlivé odpovědi sledované využitím mikrogliaální buněčné linie SIM-A9

Diplomová práce je ve své teoretické části zaměřena na charakteristiku, význam a podíl neurozánětu na vznik a rozvoj neurodegenerativních onemocnění a možnostmi jejich léčby v současné době. Experimentální část je věnována zhodnocení cytotoxicity a protizánětlivé odpovědi nově syntetizovaných látek ze skupiny naftochinonů (K1502, K1503 a K1504) a chromonů (5-EM-13, 5-EM-26 a 5-EM-36). Cytotoxicita byla hodnocena na myši mikrogliaální linii SIM-A9. Komparativně byla v této části navíc využita i neuroblastomová linie SH-SY5Y. Na obou buněčných liniích byla pomocí kolorimetrické metody MTT stanovena hodnota střední toxické koncentrace (IC_{50}) a maximální tolerovatelné koncentrace (MTC). Bezpečnost MTC byla následně verifikována pomocí mikrokapilární průtokové cytometrie u buněčné linie SIM-A9 po stimulaci lipopolysacharidem (LPS) nebo interferonem- γ (IFN- γ). Na buněčné linii SIM-A9 byly dále sledovány protizánětlivé účinky studovaných látek. Látky byly aplikovány v koncentracích odpovídajících 100 %, 50 % a 25 % MTC. Protizánětlivé účinky byly hodnoceny pomocí dvou metod. První metodu představoval enzymový imunisorbentní test (ELISA), pomocí něhož byly stanoveny hladiny prozánětlivých cytokinů IL-6 a TNF- α po stimulaci buněk LPS. LPS byl přidán 1 hodinu po aplikaci látek. Koncentrace cytokinů byly následně stanoveny 23 hodin po podání LPS. Koncentrace TNF- α byly stanoveny u všech studovaných látek, zatímco hladiny IL-6 pouze u naftochinonů. Jako druhá metoda byla použita Griessova reakce, kterou byla stanovena hladina oxidu dusnatého (NO) vyprodukovaného buňkami do kultivačního média po stimulaci IFN- γ . IFN- γ byl k SIM-A9 buňkám přidán 1 hodinu po aplikaci látek. Hladiny NO byly stanoveny 47 hodin po podání IFN- γ u všech studovaných látek. Z výsledků diplomové práce vyplývá, že deriváty naftochinonů vykazují ve srovnání se sloučeninami chromonů vyšší cytotoxicitu. Nejvíce toxickou látkou byla K1504. Modulaci zánětlivé odpovědi vyvolané LPS nebo IFN- γ

ovlivňovala pouze jediná látka, a to K1503. Tento naftochinon v přítomnosti LPS ve všech testovaných koncentracích signifikantně zvyšoval sekreci TNF- α , na druhou stranu ale neovlivňoval produkci IL-6. Po stimulaci IFN- γ inhiboval tvorbu NO při nejvyšší testované koncentraci odpovídající MTC o 27 %. Ačkoliv výsledky diplomové práce u nových derivátů naftochinonů a chromonů protizánětlivé účinky neprokázaly, naftochinon K1503 by mohl sloužit jako výchozí struktura pro hledání dalších biologicky účinných látek.

Klíčová slova: neurozánět, neuroglie, neurodegenerativní onemocnění, naftochinony, chromony