

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Miloslav Macháček

Školitel: Doc. PharmDr. Tomáš Šimůnek, Ph.D.

Název diplomové práce: Studium cytoprotektivních vlastností nových oxidačním stresem aktivovaných aroylhydrazonových prochelátorů železa

Oxidační stres hraje důležitou roli v mnohých onemocněních včetně kardiovaskulárních chorob. Fentonova reakce katalyzovaná intracelulárním redoxně aktivním železem je zdrojem vysoce reaktivních a toxických hydroxylových radikálů. Odstranění volných iontů železa se proto jeví jako vhodná strategie k zamezení dalšího rozvoje oxidačního poškození myokardu. Výsledky naší laboratoře, stejně jako jiných vědeckých skupin, ukazují slibné kardioprotektivní účinky jak *in vitro* tak v *in vivo* experimentech. Na druhou stranu, nadměrná deplece železa může také vést k toxickému poškození buněk.

Cílem této studie je proto studium nových prochelátorů železa, jejichž chelatační aktivita se projeví až po aktivaci reaktivními formami kyslíku. Boronyl ester salicylaldehydisonikotinoylhydrazonu (BSIH) a jeho derivát BSIH-PD byly studovány *in vitro* pro jejich potencionální protektivní účinky v prostředí toxických koncentrací reaktivních forem kyslíku. Kromě toho byla hodnocena i vlastní toxicita těchto látek.

Cytotoxicity byly hodnoceny na kardiomyoblastové buněčné linii H9c2 pomocí MTT testu a testu vychytávání neutrální červeně na 96 jamkových destičkách. Epifluorescenční mikroskopie byla použita k fotografické dokumentaci buněčné morfologie a poškození buněk spolu s fluorescenčním barvením na potenciál vnitřní mitochondriální membrány (JC-1 sonda) a apoptózu/nekrózu (propidium jodid a Hoechst 33342).

Výsledky těchto pokusů ukázaly velmi nízkou vlastní toxicitu prochelátoru BSIH, který byl také schopen významně chránit buňky před oxidačním poškozením způsobeným účinkem 200 μM H_2O_2 . Nejnižší účinná koncentrace BSIH byla 100 μM , přičemž jeho protektivní účinky dále stoupaly s koncentrací. Druhý prochelátor BSIH-PD vykázal vyšší vlastní toxicitu, která negativně ovlivnila jeho protektivní potenciál. Tato toxicita se pak projevila jako znatelný pokles protekce u koncentrací vyšších než 300 μM . Původní chelátor SIH chránil H9c2 buňky již za nízkých koncentrací (3 μM). Přesto ale kvůli jeho vlastní toxicitě nebylo možno dosáhnout protekce vyšší než 50% hodnot kontroly.