

ABSTRAKT

Užívání potravních doplňků, a to především flavonoidů, může předcházet vzniku mnoha civilizačních chorob. Flavonoidy jsou schopné modulovat aktivitu cytochromů P450 (CYPs), enzymů podílejících se na první fázi metabolismu cizorodých látek (xenobiotik), a tak ovlivňovat aktivaci a detoxikaci potravních karcinogenů. Inhibice aktivity těchto enzymů flavonoidy je intenzivně studována především z hlediska jejich využití při potlačení iniciační fáze během vzniku rakoviny. Na druhou stranu bylo také prokázáno, že flavonoidy mohou karcinogeny aktivovat, a to právě prostřednictvím jejich indukčního efektu na cytochromy P450. V první části této diplomové práce byl studován účinek flavonoidů dihydromyricetinu a α -naphthoflavonu na aktivitu a expresi CYP1A1, a to buď v kombinaci s karcinogenem benzo[a]pyrenem (BaP) nebo samostatně. Za tímto účelem byly izolovány mikrosomální frakce z premedikovaných potkaních jater, tenkého a tlustého střeva, ve kterých byla následně stanovena indukce CYP1A1 použitím metody „Western blot“ a bylo provedeno měření specifické aktivity cytochromů P450. V případech, kdy byl flavonoid podáván společně s BaP, docházelo v mikrosomech jater a tenkého střeva k silné indukci exprese CYP1A1. Množství detekovaného CYP1A1 proteinu bylo navíc téměř identické jako v případech, kdy byli potkani premedikováni pouze s BaP. Při porovnávání naměřených aktivit bylo poté zjištěno, že v téměř všech případech, kdy byl flavonoid podáván v kombinaci s BaP, byla aktivita výrazně nižší než v mikrosomech potkanů premedikovaných pouze s BaP. Tento trend naznačuje, že vybrané flavonoidy by mohly být schopné předcházet vzniku zhoubných nádorů.

Výše zmíněný inhibiční efekt flavonoidů na aktivitu CYPů naznačuje, že tyto potravní doplňky by také mohly ovlivňovat enzymy II. fáze biotransformace, jako třeba *N*-acetyltransferasy (NATy). Z tohoto důvodu byla druhá část této diplomové práce zaměřena na vývoj a optimalizaci metod určených jak k imunodetekci NATů, tak k měření jejich aktivity. Přestože byly připraveny tři specifické protilátky proti NAT, žádná nebyla následně schopná rozpoznat tyto enzymy v jaterních cytosolech potkanů. Měření aktivity NATů bylo založeno na detekci vzniklého CoA. Tato metoda byla nejdříve optimalizována za použití rekombinantních lidských NATů. Následné pokusy, kdy byly při měření specifické aktivity těchto enzymů použity jaterní cytosoly namísto rekombinantních NATů, byly úspěšné. Přesto je potřeba tuto metodu dále optimalizovat.

Klíčová slova: flavonoidy, cytochromy P450, *N*-acetyltransferasy