

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Jana Bártová

Školitel: PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Název diplomové práce: Oxidační poškození proteinů

Kyselina chlorná je silné oxidační činidlo, které využívají fagocytující buňky k usmrcení pohlcené bakterie. Pokud dojde k vylití obsahu fagocytu do okolí, může dojít k poškození okolních struktur včetně proteinů. Katechiny patří do skupiny flavonoidů, jejichž antioxidační vlastnosti byly demonstrovány v mnoha studiích. Moje diplomová práce byla zaměřená na potenciální vliv osmi přírodních derivátů katechinu na oxidační poškození lidského sérového albuminu (HSA) kyselinou chlornou. Použila jsem dvě spektrofotometrické (stanovení karbonylů a chloraminů) a tři elektroforetické metody (nativní PAGE, SDS-PAGE, imunoblotting). Při stanovení chloraminů jsem sledovala závislost účinku antioxidantu na jeho koncentraci (0-3 mM) a ze získaných dat jsem pomocí programu GraphPad Prism vypočítala hodnoty EC_{50} pro jednotlivé katechiny. Nejúčinnější sloučeninou byl katechin, jehož EC_{50} byla 4,8 μ M. Z výsledků vyplývá, že antioxidační schopnost klesá s rostoucím počtem hydroxylových skupin v molekule flavonoidu. Karbonylové skupiny jsou vhodným markerem probíhající oxidace proteinu. Nejsilnější protektivní účinek měl katechin, který byl v koncentraci 100 μ M schopen snížit vznik karbonylových skupin o 70,2% ve srovnání s oxidovanou kontrolou. Některé deriváty měly spíše prooxidační účinek (epikatechin). Nepodařilo se mi ani potvrdit vliv oxidace HSA na jeho relativní mobilitu (nativní PAGE) ani jsem nepozorovala agregaci či fragmentaci HSA (SDS-PAGE). Při imunoblottingu jsem u oxidovaných vzorků našla několik proužků obsahujících karbonylové skupiny (66, 140, 200 a > 250 kDa), ale stejné proužky byly přítomné i v nativní kontrole.