

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Johana Urbanová

Školitelka: PharmDr. Jana Ramos Mandíková, Ph.D.

Název diplomové práce: Transportní studie *in vitro* na 2D a 3D buněčné úrovni.

Trojrozměrné (3D) buněčné modely lépe napodobují buněčné podmínky *in vivo* než tradičně používané dvourozměrné (2D) buněčné modely. Transportéry pro organické anionty (OATs) a kationty (OCTs) hrají důležitou úlohu v ledvinné eliminaci léčiv a mají vliv na jejich farmakokinetické vlastnosti. Cílem práce bylo vytvořit 2D a 3D buněčný model z embryonálních ledvinných buněk HEK293, oba modely přechodně transfekovat transportérem hOAT1, transfekci optimalizovat a provést transportní inhibiční studie s vybranými NSAIDs (diklofenakem, ibuprofenem, indometacinem a naproxenem). 2D buněčný model jsme vytvořili ve 24jamkové destičce ve formě monovrstvy, jako 3D buněčný model jsme používali sféroidy, které jsme zhotovili na Petriho misce metodou visící kapky. Při transportních studiích jsme buňky inkubovali s radioaktivním substrátem OATs *p*-aminohippurovou kyselinou ( $[^3\text{H}]\text{PAH}$ ) s nebo bez příslušného inhibitoru. Inhibiční vliv NSAIDs jsme porovnávali pomocí parametru  $\text{IC}_{50}$ . 2D i 3D model z buněk HEK293 se nám povedlo vytvořit, ale následná transfekce byla úspěšná pouze v monovrstvě buněk. Funkčnost 3D modelu se pomocí transportní studie nepodařilo prokázat. Sféroidy jsme se ještě pokusili vytvořit z psích ledvinných buněk MDCK II stabilně transfekovaných hOCT1, ale sféroidy se nezformovaly. Inhibiční vliv NSAIDs na hOAT1 jsme proto zkoumali jen ve 2D modelu HEK293 buněk. Nejvyšší inhibiční potenciál k transportéru hOAT1 vykazoval indometacin ( $\text{IC}_{50} = 1,78 \mu\text{M}$ ), nejnižší ibuprofen ( $\text{IC}_{50} = 38,02 \mu\text{M}$ ). Závěrem lze říci, že jsme úspěšně zavedli 2D model, na kterém jsme stanovili  $\text{IC}_{50}$  všech testovaných látek a vytvořili netransfekovaný 3D buněčný model metodou visící kapky. I přes obtížnost provedení některých experimentů na 3D úrovni je důležité ve vývoji 3D modelů nadále pokračovat.