

Abstrakt

Transmisivní spongiformní encefalopatie neboli prionové choroby jsou smrtelná neurodegenerativní onemocnění postihující savce. U postižených jedinců se v CNS hromadí ložiska patologického prionového proteinu (PrP^{TSE}), která jsou příčinou smrti. Priony vykazují afinitu k různým povrchům a odolnost ke konvenčním sterilizačním procedurám. To zvyšuje riziko nosokomiálního přenosu prostřednictvím chirurgických nástrojů použitých při lékařských zákrocích na jedincích v subklinickém stádiu prionového onemocnění. V disertační práci posuzujeme použitelnost metody fotodynamické inaktivace (PDI) pro dekontaminace prionů. PDI byla iniciována deriváty ftalocyaninu (Pc): $\text{AlPcOH}(\text{SO}_3)_2$, $\text{SiPc}(\text{OH})_2(\text{SO}_3)_{1-3}$ nebo $\text{ZnPc}(\text{SO}_3)_{1-3}$ pro dekontaminace prionů. Světlem aktivované Pc generují reaktivní formy kyslíku, zejména singletní kyslík ($\text{O}_2(^1\Delta_g)$), který jsme detekovali pomocí jodidové metody, inhibičního testu s NaN_3 a oxidační degradací kyseliny močové. PDI v suspenzi infekčního mozkového homogenátu vedla k eliminaci signálu PrPres (fragment PrP^{TSE} rezistentní proteináze K) pod detekční limit western blotu při nanomolární koncentraci $\text{AlPcOH}(\text{SO}_3)_2$. Úplná eliminace signálu PrPres byla doprovázena 20% redukcí koncentrace proteinů mozkového homogenátu, nedocházelo k fragmentaci ani agregaci proteinů.

PDI indukovaná deriváty Pc eliminovala PrPres signál prionových kmenů ME7, 22L, mFu, RML, mBSE, mvCJD, 139A s rozdílnou účinností. Nejvyšší účinnosti PDI bylo dosaženo při použití $\text{AlPcOH}(\text{SO}_3)_2$ následovaný $\text{ZnPc}(\text{SO}_3)_{1-3}$. $\text{SiPc}(\text{OH})_2(\text{SO}_3)_{1-3}$ byl v indukcii fotodynamické eliminace účinný nejméně.

Pokles infektivit RML prionů pomocí PDI byl evaluován na myším modelu, který je extrémně citlivý k prionové infekci. U myší inokulovaných PDI RML priony došlo k signifikantnímu prodloužení délky života, která odpovídala redukcí prionové infektivit o 4 řády. Účinnost PDI na RML priony sorbované k plastovému povrchu byla sledována pomocí CAD5 buněčné linie, která je citlivá k prionovým onemocněním. Infektivita sorbovaných RML prionů byla po PDI snížena o 3 řády. Věříme, že tato metoda může být účinným nástrojem k dekontaminaci prionů, pokud by byla zavedena do sterilizačního protokolu v nemocničních zařízeních.