ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biochemických věd

Kandidát: Kateřina Zvolánková
Školitel: Mgr. Miloslav Macháček
Název diplomové práce: Nové ftalocyaninové fotosenzitizéry pro fotodynamickou terapii nádorových onemocnění

Nádorová onemocnění jsou již po řadu let závažným celosvětovým problémem. Významným faktorem jejich stále rostoucí incidence v lidské společnosti je dlouhověkost populace. Dalšími možnými vlivy jsou vyšší výskyt fyzikálních a chemických kancerogenů a lepší diagnostika zhoubných novotvarů. Světová zdravotnická organizace (WHO) uvádí, že ročně zemře v důsledku onkologického onemocnění téměř 8 milionů obyvatel naší planety, přičemž 1,7 milionů úmrtí připadá na oblast Evropy. Zhoubné nádory jsou v České republice (ČR), stejně jako ve světě, druhou nejčastější příčinou úmrtí po kardiovaskulárních chorobách, a to u obou pohlaví. Míra úmrtnosti na zhoubné nádory navzdory jejich rostoucí incidenci ve světě klesá. Tento pokles souvisí především s vyšší kvalitou lékařské péče a s dostupností nových diagnostických a terapeutických prostředků.

Terapie nádorových onemocnění je proto významným předmětem biomedicínského výzkumu. Snahou vědeckých týmů je vyvinout účinnou a vysoce selektivní terapii, která by cíleně zasáhla nádorové buňky a minimálně ovlivnila zdravou tkáň. Fotodynamická terapie (PDT) má výborný potenciál pro splnění těchto požadavků. V současné době je PDT stále především ve fázi preklinických a klinických testů, které jsou zásadní pro její další rozvoj. V klinické praxi se PDT využívá v současné době jen v USA, Kanadě, Japonsku a v některých evropských státech.

Hlavní komponenty PDT tvoří fotosenzitizér (PS), červená oblast viditelného světla a kyslík. Tyto složky samy o sobě nejsou toxické, avšak jejich kombinace iniciuje fotochemickou reakci, která je klíčovým momentem celé metody. Produktem této reakce jsou vysoce reaktivní formy kyslíku (ROS) navozující poškození buněčných komponent a

buněčnou smrt. Kromě přímého cytotoxického efektu vyvolává PDT také zánětlivou reakci a narušuje krevní zásobení nádoru.

Cílem této práce bylo hodnocení nových PS ze skupiny ftalocyaninů a jejich aza-analogů, které by mohly být v budoucnu s výhodou použity v klinické praxi. Tyto PS byly hodnoceny z hlediska jejich toxického efektu pro nádorové buňky. Cytotoxická účinnost byla stanovena v podmínkách *in vitro* na buněčné linii HeLa pocházející z maligního karcinomu děložního čípku. Životaschopnost buněk po kultivaci s PS a po ozáření světlem ($\lambda > 570$ nm, 12,4 mW/cm^2, 15 min, 11,2 J/cm^2) byla stanovena pomocí testu vychytávání neutrální červeně.

K hodnocení morfologických změn buněk po aktivaci PS byla použita fluorescenční mikroskopie a mikroskopie v diferenciálním interferenčním kontrastu. Pro vizualizaci mitochondriálních změn bylo použito fluorescenční barvení sondou MitoTracker Green, pro detekci změn v jádře byla použita kombinace propidium jodidu a fluorescenční soundy Hoechst 33342. Pro určení subcelulární lokalizace byla použita navíc fluorescenční sonda LysoTracker Blue.

Výsledky provedených experimentů ukázaly poměrně nízkou aktivitu sledovaného PS ze skupiny ftalocyaninů, aktivita jeho aza-analoga nebyla v našich podmínkách potvrzena. Vhodnou kombinaci PS s nosičovým systémem se v průběhu studie nepodařilo nalézt vzhledem k vysoké toxicitě vybraných nosičů (Cremophor EL, různé typy Si nanočástic), či jejich limitované kapacitě pro příjem PS (liposomy).