

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakológie a toxikológie

Študentka: Simona Hvolková

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

Názov diplomovej práce: Testovanie cytotoxicity na 2D a 3D modeli ľudských pečeňových buniek.

Neodmysliteľnou súčasťou vývoja liečiv sú *in vitro* testy, pomocou ktorých môžeme predpovedať toxicitu liečiv. Dnes väčšina testov využíva pre rast buniek jednoduchú 2D štruktúru, no do popredia sa čoraz viac dostáva 3D štruktúra pripomínajúca podmienky *in vivo*. Cieľom práce bolo stanovenie cytotoxicity *in vitro* vybraných xenobiotík s pomocou 2D a 3D bunkového modelu. Predmetom skúmania boli látky zo skupiny antimykotík (amfotericín B, ketokonazol), NSAIDs (diklofenak, ibuprofen), antipyretík (paracetamol, fenacetín), ďalej látky azid sodný, tamoxifén, para-aminosalicylová kyselina, methanol a ethanol. Pre zistenie cytotoxicity bola použitá štandardná kolorimetrická metóda (CellTiter 96[®]) založená na redukčnom stanovovaní metabolicky aktívnych buniek. Na testovanie látok bola vybraná štandardná línia ľudských pečeňových buniek HepG2. Boli kultivované v monovrstve alebo 3D forme pomocou technológie Alvetex[®] Scaffold využívajúca vysoko porézny zosieťovaný polystyrén. Pre posúdenie toxicity testovaných látok bol zvolený parameter inhibičnej koncentrácie IC₅₀ umožňujúci porovnanie cytotoxicity látky v rámci 2D a 3D kultúry a látok medzi sebou. Zo zistených hodnôt IC₅₀ vyplýva, že bunky kultivované v 3D prostredí, ktoré viac napodobňuje *in vivo* podmienky, boli bunky odolnejšie voči vyšším koncentráciám testovanej látky ako v 2D prostredí. Najvyššiu cytotoxicitu na 2D a 3D modeli HepG2 buniek vykazoval amfotericín B, pričom najnižšiu cytotoxicitu vykazoval fenacetín. Cytotoxický účinok fenacetínu bol pomerne nízky, a tak presnú hodnotu IC₅₀ sa nám nepodarilo určiť a pravdepodobne leží mimo rozhrania testovaných koncentrácií. Pomocou CellTiter 96[®] sa nám podarilo získať IC₅₀ pre takmer všetky testované látky, čo nám umožnilo porovnať cytotoxicitu látky medzi 2D a 3D modelmi HepG2 buniek. Na základe údajov zistených *in vitro* môžeme zhrnúť, že 3D model predstavuje vhodnejší nástroj na predikciu toxicity indukovanú liekmi.