

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Lenka Brieslingerová

Školitel: RNDr. Miloslav Macháček, Ph.D.

Název diplomové práce: Vývoj 3D sférických buněčných modelů odvozených od nádorových buněčných kultur vhodných pro studium fotodynamické terapie

Vzhledem k celosvětově narůstajícímu počtu nádorových onemocnění je stále velká snaha zefektivnit jejich léčbu. Běžně je testování nově vyvíjených léčiv prováděno na kulturách nádorových buněk rostoucích v monovrstvě. Použití 3D sféroidních modelů však poskytuje vhodnější způsob testování, jelikož tyto modely dokáží lépe napodobit vlastnosti *in vivo* nádorů a poskytnout tak reálnější odezvu na podaná léčiva. 3D sféroidní modely mohou být využity kromě testování nových cytostatik také jako nádorové modely pro studium účinku fotodynamické terapie (PDT), ač tento model stále není v tomto oboru příliš rozšířen. PDT je alternativní minimálně invazivní léčebná metoda nejen pro nádorová onemocnění. Využívá fotosenzitizéru (PS), molekulárního kyslíku ($^3\text{O}_2$) a světla k tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS), které následně poškozují nádorovou tkáň.

Tato práce se zabývala zhotovením 3D sféroidních buněčných kultur z HeLa buněčné linie, které byly následně použity k dalším pokusům, včetně PDT. Sféroidy byly vytvořeny metodou visuté kapky a metodou využívající destičky s velmi nízkou adhezivitou (ULA). Pro tvorbu optimálních a jednotných sféroidů byla jako vhodnější vyhodnocena metoda s použitím ULA destiček, která taktéž umožňovala dlouhodobou kultivaci a jednodušší přípravu uniformnějších a pravidelnějších sféroidů. Pro dosažení kompaktnějších sféroidů vytvořených visutou kapkou bylo vyzkoušeno dodání extracelulární matrice (ECM) ve formě kolagenu, avšak jeho pozitivní vliv nebyl v našem experimentu s HeLa buňkami prokázán.

K vyhodnocování účinnosti PDT byl použit biochemický test životaschopnosti s využitím resazurinu. Pro použití testu bylo nutné optimalizovat inkubační dobu resazurinu se sféroidy, kdy jsme jako ideální čas zvolili 4 hodiny. Jako PSs pro studium účinnosti PDT na sféroidech byly použity nově syntetizované amfifilní látky ze skupiny ftalocyaninů (Pc). Kladně nabitá látka P40 vykazala vyšší fotodynamickou aktivitu než záporně nabitá látka P44. Práce se také zabývala optimalizací postupu barvení sféroidů pro jejich zobrazení konfokální mikroskopií. Byl taktéž zaveden test invazivity a migrace.