

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Petra Brázdová

Školitel: Mgr. Miloslav Macháček

Název diplomové práce: Studium nových ftalocyaninů pro fotodynamickou terapii nádorů zaměřenou na cévy

Nádorová onemocnění jsou jednou z vedoucích příčin úmrtí ve vyspělých státech, proto je výzkumu protinádorových léčiv věnováno velké úsilí. Fotodynamická terapie (PDT) je v této oblasti dnes již zavedenou metodou, ovšem o směřování jejího účinku na nádorové cévy se začalo uvažovat až poměrně nedávno. Fotodynamická terapie zaměřená na cévy (VTP) využívá, v porovnání s PDT, mnohem kratšího intervalu mezi podáním fotosenzitizeru (PS) a ozáření, čímž je účinek cytotoxických látek směřován na zamezení cévního zásobení nádoru. To má za cíl přerušit přístup kyslíku a živin maligním buňkám a způsobit tak jejich poškození a smrt.

Cílem této práce je zhodnocení účinnosti nově syntetizovaných PS ze skupiny ftalocyaninů a azaftalocyaninů s využitím protokolu VTP v *in vitro* podmínkách. Použité PS již byly v nedávné době studovány metodami klasické PDT, při níž prokázaly velice slibnou účinnost vůči nádorovým buňkám a nízkou vlastní toxicitu.

Hlavním cílem této práce bylo hodnocení schopnosti cytotoxického působení těchto PS po ozáření aktivačním světlem ihned po jejich aplikaci. Hodnocení životaschopnosti buněk probíhalo pomocí testu vychytávání neutrální červeně na 96 jamkových destičkách. Experimenty byly prováděny na dvou typech buněčných linií – lidská endoteliální buněčná linie EA.hy926 a lidská maligní cervikální linie HeLa.

Fluorescenční mikroskopie a mikroskopie v diferenciálním interferenčním kontrastu byly použity k hodnocení morfologických změn buněk po aktivaci PS. K detekci vybraných subcelulárních změn bylo použito fluorescenční barvení sondou JC-1 pro určení poškození mitochondrií a propidium jodid (PI) v kombinaci s Hoechst 33342 k rozlišení změn v jádře během buněčné smrti. Ta byla dále potvrzována průtokovou cytometrií s buňkami

fluorescenčně značenými PI a FITC-Annexinem V. Případné zapojení autofagie do procesu buněčné smrti bylo hodnoceno fluorescenčním značením monodansylcadaverinem.

Výsledky provedených experimentů potvrdily vysokou aktivitu těchto látek vůči vybraným buněčným liniím i ve VTP protokolu, přičemž celkově nejvhodnějším PS se ukázal být periferně substituovaný derivát ftalocyaninu s vysokou aktivitou po ozáření ($EC_{50} = 0,57 \mu\text{M}$ pro EA.hy926, resp. $0,24 \mu\text{M}$ pro HeLa buňky) a především velmi nízkou vlastní toxicitou ($TC_{50} > 1500 \mu\text{M}$).