

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát **Mgr. Miloslav Macháček**

Školitel **doc. PharmDr. Tomáš Šimůnek, Ph.D.**

Název disertační práce **Studium nových fotosensitizerů ze skupiny ftalocyaninů a azaftalocyaninů pro fotodynamickou léčbu nádorových onemocnění**

Fotodynamická terapie (PDT) nádorů je neinvazivní metoda určená k léčbě solidních nádorů. Jejimi základními složkami jsou molekulární kyslík, světlo a fotosensitizer (PS) – komponenty samy o sobě netoxické, ale v kombinaci vedoucí k tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS; především singletového kyslíku), které poškozují buněčné struktury a vedou k buněčné smrti. Způsob, jakým je nádorová buňka zničena závisí především na typu PS, délce ozáření a lokalizaci léčiva, protože singletový kyslík je vysoce reaktivní a je schopen jen minimální difúze v biologických systémech. Kromě přímého cytotoxického působení PS se na eradikaci nádoru podílí také poškození cév (deprivace živin a kyslíku) a aktivace imunitního systému. V současné době se při návrhu struktur PS přistupuje buď vytvářením vhodné kombinace dostatečně aktivní látky a nosičového systému, tvorbou cílených konjugátů, nebo syntézou látek s vysokou aktivitou a minimální mírou tvorby agregátů ve vodném prostředí. V naší práci jsme se zaměřili především na hydrofilní ftalocyaniny (Pc) a azaftalocyaniny (AzaPc) s minimální toxicitou bez ozáření (u našich derivátů typicky v řádech 10^2 – 10^3 μM), a zároveň vysokou toxicitou po expozici aktivujícím záření (řádově až 10^{-3} μM). Celou řadu takovýchto látek se podařilo připravit a charakterizovat jak z hlediska fotofyziky, tak z hlediska fotodynamické aktivity v in vitro podmínkách na buněčné linii lidského karcinomu děložního čípku (HaLa). U nejnadějnějších látek byla tato aktivita sledována i na dalších nádorových i nenádorových liniích. Vzhledem k tomu, že aktivita PS je mj. ovlivněna i jejich lokalizací, důležitou součástí této práce bylo také určení primárního cíle po ozáření. Ve všech případech byl tento určen jako endo lyzosomální kompartment. PS po aktivaci poškozují membránu těchto organel a redistribuují se do cytoplazmy, kde během ozařování způsobují poškození dalších buněčných komponent. U kationických derivátů byla také pozorována následná redistribuce do jádra díky jejich vazbě na záporně nabitou strukturu DNA; tato redistribuce však probíhá až po ozáření, a to jen díky poškození jaderné membrány. Nedá se tedy očekávat mutagenní účinek těchto nových derivátů, což je také jedna z obecných kladných charakteristik léčiv tohoto typu oproti klasické chemoterapii. Masivní tvorba ROS po aktivaci vedla u námi studovaných lyzosomálně lokalizovaných derivátů k buněčné smrti nekrotického typu doprovázené neúplnou retrakcí buněk, tvorbou velkých membránových blebů, zkrácením a zakulacením mitochondrií a reorganizací aktinového a tubulinového cytoskeletu. U anionického AzaPc se nám také podařilo popsat mechanismus, který stojí za obecně nižší aktivitou záporně nabitých fotosensitizerů i přes absenci agregace. Anionické PS se váží na sérové bílkoviny (především albumin), kde dochází ke zhášení tripletového stavu a snížené tvorbě singletového kyslíku. Tato vazba však zároveň částečně chrání PS před negativním vlivem kyselého pH v lumen lyzosomů, kde by jinak karboxylátové skupiny ztrácely náboj a PS by agregoval. Výsledky našeho výzkumu ukazují, že i lyzosomálně lokalizované (Aza)Pc jsou účinnými PS indukující rychle a efektivně oxidativní poškození vedoucí k buněčné smrti.