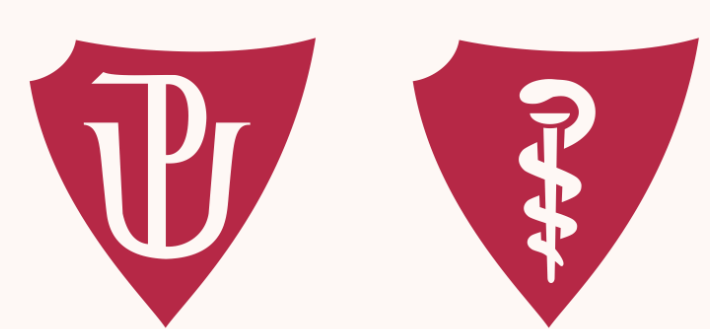




Využití nanotechnologií v medicíně

Autorka: Alexandra Andrusová

Školitelka: Doc. Ing. Kateřina Bartoň Tománková, Ph.D.

Ústav lékařské biofyziky

ÚVOD

Nanokompozity na bázi grafenové kyseliny (GA) a grafen kyanidu (G-CN), na které je navázán kurkumin, představují inovativní přístup k využití fotodynamických vlastností kurkuminu a fototermaálních vlastností grafenu.

Tento systém umožňuje zlepšenou stabilitu a cílené doručení kurkuminu, čímž zvyšuje jeho účinnost. Výskum zaměřený na buněčné linie HeLa (rakovinné buňky) a NIH3T3 (fibroblasty) poskytuje důležité informace o jeho selektivním působení a potenciálu v oblasti protinádorové terapie. Tento přístup kombinuje výhody nanomateriálů s biologickými vlastnostmi kurkuminu, což otevírá nové možnosti v léčbě rakoviny.

CÍLE

Ověřit fotodynamický/fototermaální účinek kompozitů GA a G-CN s navázaným kurkuminem, a ověřit jejich vliv na životnost buněčných linií HeLa a NIH3T3 a na produkci reaktivních forem kyslíku (ROS).

METODIKA

- 1) K dispozici byly nanokompozity GA85_65 (cm = 1,5 mg/ml), GA85_40 (cm = 2 mg/ml), GA68r (cm = 2,5 mg/ml) a GCN77r (cm = 3 mg/ml), které byly před přidáním kurkuminu „aktivovány“ pomocí EDC a NHS – tyto látky aktivují karboxylovou skupinu.
- 2) Po 24 hodinách míchání kompozitu byl přidán kurkumin rozpuštěný v minimálním objemu DMSO. Poměr grafenového kompozitu a kurkuminu byl 1:2.
- 3) Po dalších 24 hodinách míchání byl vzorek centrifugován při 13 000 RPM, při 20 °C po dobu osmi minut, a poté byly odebrány supernatanty.
- 4) K ověření fytotoxicity byly využity buněčné linie HeLa a NIH3T3. Studované koncentrace byly v rozmezí 0,1 - 7 μ M.
- 5) Fotodynamický/fototermaální jev byl indukován pomocí ozařovače s vlnovou délkou 414 nm po dobu 45 s, dále 800 nm po dobu 23,5 min.
- 6) Životnost buněk a produkce reaktivních forem kyslíku (ROS) byla stanovena po 24 a 48 hodinách od ozáření.
- 7) Prostřednictvím SEM byly pozorovány ozářené buňky.

VÝSLEDKY

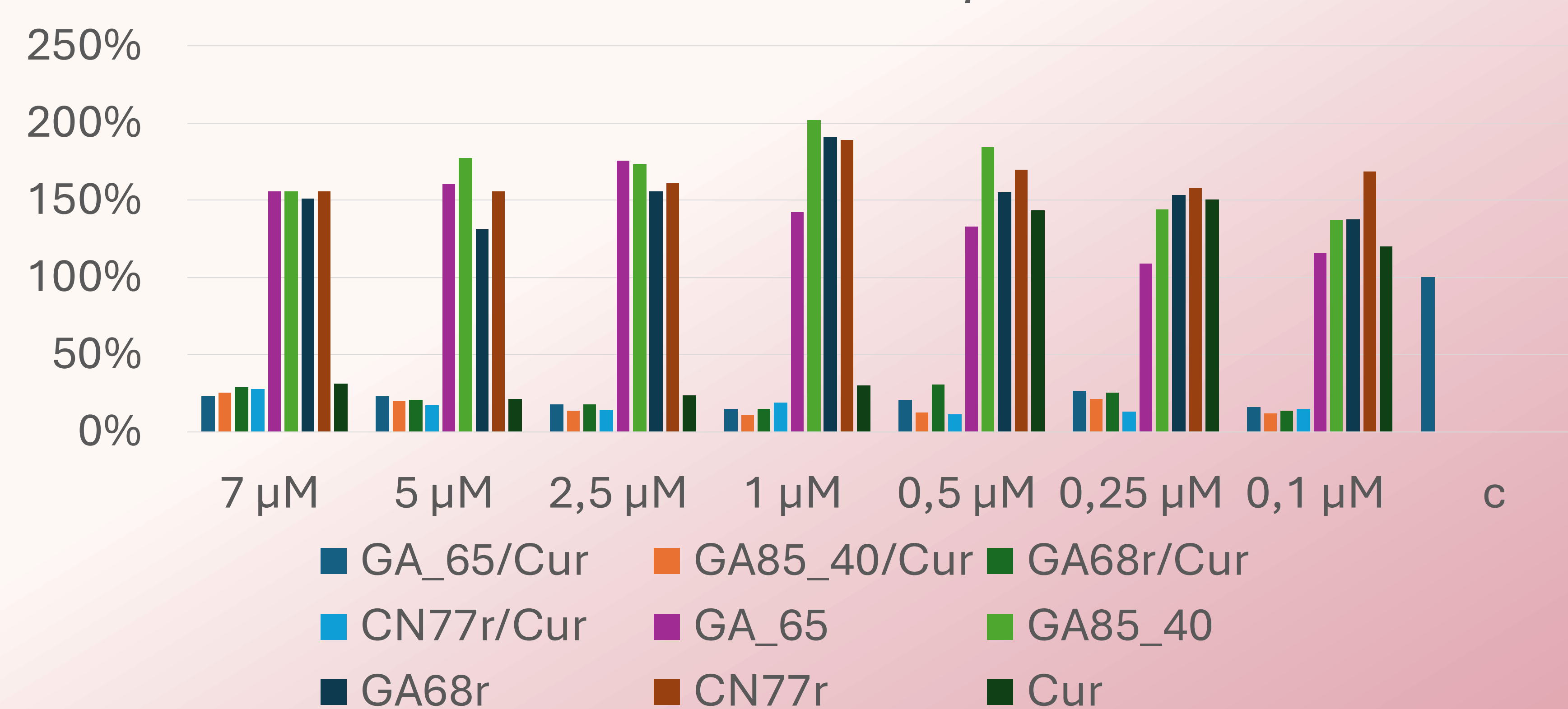
Ze všech studovaných nanokompozitů se jako nejúčinnější ukázal GCN77rcurc po ozáření vlnovou délkou 414 nm. Průměrná velikost částic tohoto kompozitu byla 1209 nm (nejmenší průměrnou velikost částic – 768,5 nm měl kompozit GA85_40, který měl druhé nejlepší výsledky). Životaschopnost buněk NIH3T3 po 24 hodinách od ozáření vlnovou délkou 414 nm klesla při 0,25 μ M na 43 %. Při využití koncentrace 0,1 μ M nedošlo ke snížení životnosti. Po 48 hodinách se životaschopnost při 0,25 μ M zvýšila na 63 % . U buněk HeLa došlo ke snížení na 13 % (0,25 μ M) respektive 15 % u koncentrace 0,1 μ M. Po 48 hodinách byla životaschopnost stejná. Produkce ROS v buňkách NIH3T3 a HeLa po 24 hodinách od ozáření vlnovou délkou 414 nm byla přibližně stejná v porovnání s kontrolou. Za pomoci SEM byly zhotoveny obrázky buněk, kde u buněk HeLa byly viditelné známky apoptózy/nekrózy.

ZÁVĚR

Vazbou kurkuminu na 2D grafenové nanomateriály bylo využito fotodynamických a fototermaálních účinků syntetizovaného kompozitu. Byla ověřena produkce ROS po PDT/PTT a stanovena životnost buněčných linií. HeLa buněčná linie vykazovala výraznější poškození ve srovnání s nenádorovou linií NIH3T3 a kontrolnou skupinou, což potvrzuje potenciál těchto nanokompozitů pro cílenou terapii rakovinných buněk. Produkce reaktivních forem kyslíku byla u obou linií poměrně nízká, což odpovídá známým antioxidačním účinkům kurkuminu.

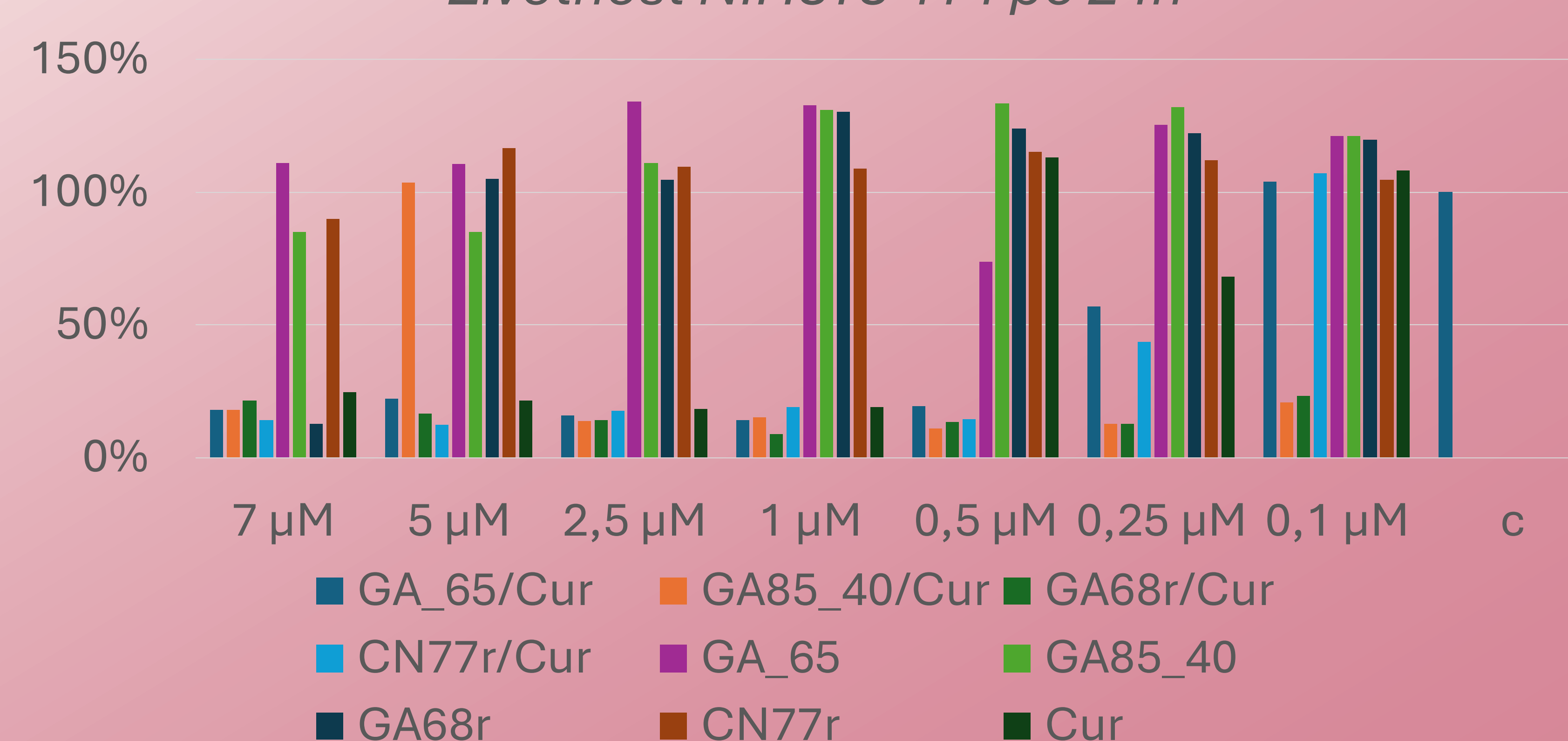
GRAF č.1

Životnost HeLa 414 po 24h

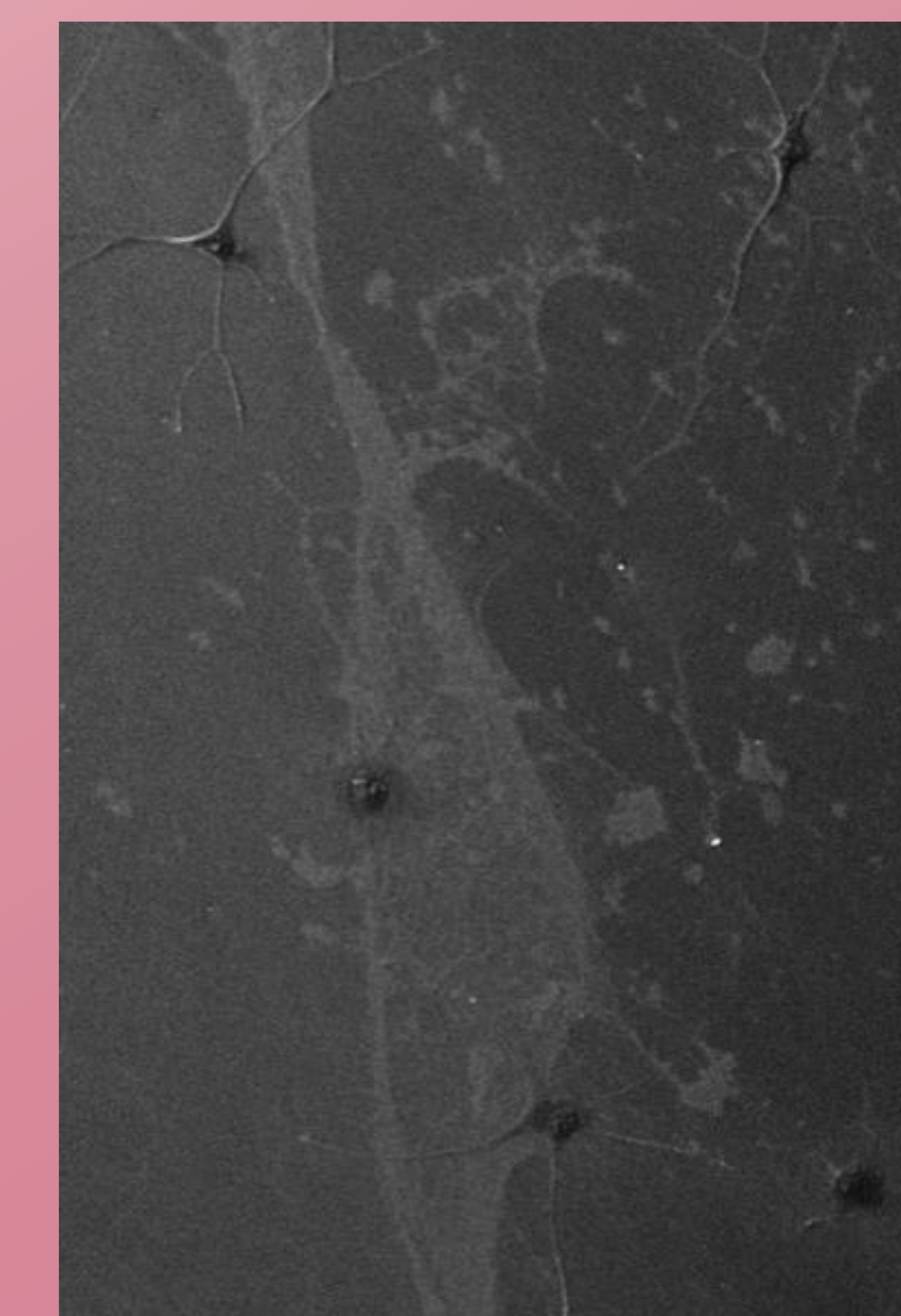


GRAF č.2

Životnost NIH3T3 414 po 24h



Obr. č.1 – NIH3T3



Obr. č.2 - HeLa

