

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Tereza Houdková

Školitel: PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

Název diplomové práce: Účinky kolchicinu na expresi a aktivitu P-glykoproteinu v caco-2 buňkách

Caco-2 buňky jsou jedním z nejpoužívanějších modelů lidských buněčných struktur. Tyto buňky pocházejí z lidských kolorektálních adenokarcinomů a jsou používány jako spolehlivý *in vitro* model pro střevní vylučování léků zprostředkované P-glykoproteinem. P-glykoprotein je ATP-dependenční efluxní pumpa kódovaná u člověka MDR1 genem a je vysoce vyjádřena v několika typech nádorových buněk.

P-glykoprotein je indukovatelný mnoha léky včetně dexametazonu, rifampicinu, třezalky - rostlinného antidepresiva (hyperforinu a hypericinu) a chemoterapeutik doxorubicinu, daunorubicinu a vinblastinu. Citlivost P-glykoproteinu caco-2 buněk k různým indukujícím sloučeninám zatím není ještě plně objasněna. Kolchicin je toxický, přírodní produkt a sekundární metabolit, původně získaný z rostlin rodu *Colchicum* – *Colchicum autumnale*. Tato látka se používá jako lék proti rakovině a je známa jako induktor P-glykoproteinu. Hlavním cílem této práce bylo zhodnotit potenciální změny v expresi a aktivitě P-glykoproteinu caco-2 buněk působením kolchicinu.

Caco-2 buňky byly vystaveny řadě koncentrací kolchicinu (0,1 μM – 100 μM) po dobu maximálně 96 hodin. Cytotoxicita kolchicinu byla hodnocena MTT testem v různých časových intervalech. Exprese a transportní aktivita P-glykoproteinu byla hodnocena průtokovou cytometrií, pomocí fluorescenčního isothiokyanátu a P-glykoproteinového fluorescenčního substrátu rhodaminu 123. Z výsledků vyplývá, že kolchicin je cytotoxický pro všechny zkoušené koncentrace, kterým jsou vystaveny caco-2 buňky více než 24 hodin. Z tohoto důvodu byla hodnocena exprese a transportní aktivita P-glykoproteinu po 24 hodinách inkubace s kolchicinem. Vystavení caco-2 buněk kolchicinu po dobu 24 hodin vyvolá malé, ale významné zvýšení exprese P-glykoproteinu. Naopak u transportní činnosti P-glykoproteinu nebyly pozorovány žádné významné změny. Pozorované výsledky umožnily charakteristiku těchto buněk za účelem studia mechanismu indukce.