

Abstrakt

Nádorová onemocnění jsou i přes veškeré pokroky v onkologické diagnostice a terapii druhou nejčastější příčinou úmrtnosti. Proto je naší snahou přispět ke zlepšení této situace. Cílem disertační práce bylo studium vlivu dvou protinádorových léčiv ellipticinu (Elli) a doxorubicinu (DOX) na vybrané nádorové i zdravé buněčné linie. Zvláštní zřetel byl kladen na rozšíření současných znalostí o metabolismu a cytostatických účincích Elli v neuroblastomových buněčných liniích. Jednalo se také o objasnění mechanismu vzniku resistance nádorových buněk vůči Elli a vysvětlení, jaký vliv na protinádorovou léčbu mohou vykazovat inhibitory histondeacetylas. V neposlední řadě bylo cílem vyvinout apoferritinový (Apo) nanotransportér, který by byl vhodný pro transport cytostatik do nádorových buněk. V disertační práci bylo zjištěno několik zásadních poznatků. Cytochrom P450 (CYP) 3A4 oxiduje Elli na metabolity, jež tvoří dva kovalentní adukty s DNA. Tvorba aduktů byla pozorována také v případě, kdy byl CYP3A4 enkapsulován do nanočásticového systému, konkrétně systémů liposomů či SupersomůTM. Množství aduktů bylo závislé na koncentraci enkapsulovaného CYP3A4. SupersomálníTM CYP3A4, ve srovnání s liposomálním CYP3A4, generuje větší množství aduktů s DNA díky přítomnosti určitých typů lipidů a proteinů nebo cytochromu b₅. Nanočásticové formy CYP3A4 mohou být účinné pro přenos enzymu do nádorové tkáně, kde mohou efektivně aktivovat ellipticin. Zjistili jsme, že jedním z mechanismů, které přispívají ke vzniku resistance neuroblastomových buněk vůči Elli je sekvestrace cytostatika v lysosomech těchto buněk. Elli je tak přítomný v jádrech a cytoplasmě buněk v nízkých koncentracích a jeho cytotoxické účinky jsou sníženy. Sekvestrace je závislá na expresi vakuolární (V)-ATPasy. Inhibitory V-ATPasy snižují vakuolizaci Elli v lysosomech, a tím zvyšují jeho cytostatické účinky v nádorových buňkách. Při studiu vlivu inhibitoru histondeacetylas valproátu (VPA), s cílem potencovat cytotoxické účinky Elli v neuroblastomových buněčných liniích, jsme zjistili synergistický účinek obou léčiv. Jejich synergický účinek byl patrný pouze při současném podání obou léků nebo v případě působení nejprve samotného Elli následovaného VPA. VPA zvyšuje acetylaci histonů H3 a H4, která je důležitá pro zpřístupnění DNA metabolitům ellipticinu, vedoucímu k tvorbě kovalentních aduktů s DNA, které jsou hlavním mechanismem účinku tohoto léčiva. Jako jeden z přístupů, jak redukovat nežádoucí účinky cytostatik, bylo studium použití nanočástic Apo pro cílený transport cytostatik. Apo je selektivně rozpoznán membránovými receptory SCARA5 a TfR1, jež jsou exprimovány mnoha nádorovými buňkami. Elli enkapsulací neztratí svou cytotoxickou aktivitu. Zároveň je schopen vstupovat do jader

neuroblastomových buněk, kde poškozuje DNA. Naopak v nenádorových fibroblastech je Elli uvolněný z Apo sekvestrován v lysosomech a jeho cytotoxické účinky jsou tak výrazně sníženy. Povrch Apo lze navíc konjugovat protilátkami proti specifickým antigenům exprimovaným na povrchu nádorových buněk. Proto byl v práci navržen, připraven a charakterisován nanotransportér (s enkapsulovaným DOX), který byl selektivně cílený protilátkou proti specifickému prostatickému membránovému antigenu, jež je exprimován prostatickými nádorovými buňkami. Připravený nanotransportér specificky „cílí“ na testované nádorové buňky. Navíc, modifikace jeho povrchu protilátkou snížila toxické účinky DOX ve zdravých buňkách.

Klíčová slova: apoferritin, chemoresistence, cytochromy P450, doxorubicin, ellipticin, inhibitory histondeacetylas, nádorové buněčné linie, nádor prostaty, nanočástice, neuroblastom