

## Abstrakt

Onkologická onemocnění patří mezi nejzávažnější problémy moderní medicíny a jejich výskyt se neustále zvyšuje. Neuroblastom je maligní embryonální nádor dětského věku, vznikající z periferního nervového systému a je to nejčastější nádor u kojenců. I přes významný vývoj léčebných metod v posledních letech zůstává toto onemocnění obtížně léčitelné. K léčbě tohoto nádoru se využívá chirurgická léčba, radioterapie a chemoterapie s použitím cytostatik. Cytostatika, jako je doxorubicin, cisplatina či ellipticin, se stala velmi významná v léčbě zhoubných nádorů. Avšak jednou z největších komplikací chemoterapie je vznik lékové rezistence. Tato práce se zabývá studiem vakuolární  $H^+$ -ATPasy (V-ATPasy), která hraje důležitou roli v tvorbě lékové rezistence. Jedná se o protonovou pumpu potřebnou pro acidifikaci vakuol.

Senzitivní neuroblastomová buněčná linie (UKF-NB-4) a linie rezistentní vůči doxorubicinu, ellipticinu a cisplatině (UKF-NB-4<sup>DOXO</sup>, UKF-NB-4<sup>ELLI</sup> a UKF-NB-4<sup>CDDP</sup>) byly vystaveny působení těchto cytostatik. Ovlivnění exprese proteinu V-ATPasy bylo sledováno imunochemicky, metodou Western blot a exprese na genové úrovni pomocí kvantitativní reverzně transkripční polymerasové řetězové reakce (RT-PCR). Ellipticin indukuje zvýšení exprese V-ATPasy v neuroblastomových buňkách jak na proteinové, tak na genové úrovni, zatímco vlivem cisplatiny dochází ke snížení exprese tohoto enzymu. Působením doxorubicinu se zvyšuje exprese V-ATPasy pouze na proteinové úrovni. Zjištěno rovněž bylo, že specifický inhibitor V-ATPasy, bafilomycin A, potencuje vývoj apoptosy generovaný ellipticinem a cisplatinou. V buněčné linii UKF-NB-4 indukoval doxorubicin i ellipticin tvorbu lysosomů, do kterých se tato cytostatika akumulují, a tento proces výsledně vede ke snížení jejich cytotoxicity.

Prokázali jsme, že modulace exprese V-ATPasy je jedním z mechanismů umožňujících přežití buněk neuroblastomu po působení cytostatik. Může tedy být uvažována jako možný terapeutický cíl.

Klíčová slova: neuroblastom, léková rezistence, vakuolární ATPasa, bafilomycin A