

## Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Jana Kroupová

Školitel: PharmDr. Anna Jirkovská, Ph.D.

Název diplomové práce: Vliv inhibice proteazomu na antiproliferační účinek antracyklinových antibiotik

Antracyklinová antibiotika (daunorubicin, doxorubicin) patří mezi nejúčinnější protinádorová léčiva. V současné klinické praxi jsou používány nejčastěji v kombinacích, a to jak s „klasickými“, tak i novými „cílenými“ protinádorovými léčivy. Mezi tato nová protinádorová léčiva patří také inhibitory proteazomu (bortezomib a karfilzomib). Proteazom je multienzymový komplex v eukaryotických buňkách, který je zodpovědný za intracelulární degradaci proteinů. Inhibitory proteazomu se doposud uplatnily převážně v terapii mnohočetného myelomu, ale jejich potenciál je studován také u jiných malignit. Jejich použití v kombinaci s antracykliny se jeví jako možná alternativa v terapii některých nádorových onemocnění, avšak účinek kombinace antracyklinů a inhibitorů proteazomu na nádorové buňky nebyl dostatečně objasněn. Terapie antracykliny je také doprovázena závažným nežádoucím účinkem – kardiotoxicitou, jejíž potenciál může být kombinací s inhibitory proteazomu ovlivněn.

Cílem této diplomové práce bylo zhodnotit antiproliferační aktivitu inhibitorů proteazomu bortezomibu a karfilzomibu na buňky lidské promyelocytární leukemie (HL-60) a vliv těchto látek na antiproliferační účinek daunorubicinu na tyto nádorové buňky. Dalším cílem bylo také studovat jejich vliv na toxicitu daunorubicinu v *in vitro* modelu antracyklinové kardiotoxicity na izolovaných potkaních neonatálních ventrikulárních kardiomyocytech.

Antiproliferační aktivita inhibitorů proteazomu byla testována na suspenzní buněčné linii HL-60. Buněčná viabilita byla hodnocena pomocí MTT testu po 72hodinové inkubaci buněk s daunorubicinem, doxorubicinem, bortezomibem a karfilzomibem v široké koncentrační škále. Z těchto dat byly vypočteny hodnoty  $IC_{50}$  pro všechny studované látky. Následně

byl analyzován kombinační efekt metodou podle Chou a Talalaye. Bortezomib i karfilzomib vykazovaly poměrně výrazné antiproliferační účinky vůči leukemické buněčné linii s hodnotami  $IC_{50}$  v řádu jednotek nM. Avšak kombinace s antracykliny nevedla k výraznému zvýšení antiproliferačního účinku (kombinační index byl ve velké části koncentrační škály v hodnotách vyšších než 1).

Vliv inhibice proteazomu pomocí bortezomibu a karfilzomibu na viabilitu izolovaných neonatálních kardiomyocytů byl hodnocen po 48hodinové inkubaci s testovanými látkami pomocí stanovení aktivity laktátdehydrogenázy uvolněné z buněk do kultivačního média během inkubace. U obou látek byla stanovena hodnota  $IC_{50}$ . Dále byl na tomto modelu hodnocen vliv inhibice proteazomu na kardiotoxicitu daunorubicinu. Při tomto hodnocení bylo zjištěno, že inhibice proteazomu v našem schématu výrazně neovlivňuje toxicitu daunorubicinu vůči primárním neonatálním kardiomyocytům. Toto pozorování však bude nutno doplnit ještě dalšími hodnoceními v dalších časových schématech a koncentracích bortezomibu a karfilzomibu.