

Analýza růstově inhibičních mechanismů flubendazolu u buněk maligního melanomu

Maligní kožní melanom je ve svém pokročilém stádiu vysoce agresivním nádorovým onemocněním, často chemorezistentním na většinu současných terapeutických strategií. V současné době se výzkumy zaměřují na identifikaci nových cílů v maligních melanocytech či se snaží využít tzv. nových indikací již schválených léčiv, a to prostřednictvím přístupů nazývaných „drug repurposing“. Tato práce se zabývá ověřováním růstově inhibičních vlastností jednoho takového léčiva – flubendazolu (FLU) – široce využívaného anthelmintika patřícího do rodiny benzimidazolových derivátů. Toto léčivo specificky interaguje s β -tubulinem, což následně vede k poškození struktury a funkce mikrotubulů v ovlivněných buňkách. Několik členů benzimidazolové rodiny (včetně FLU) již prokázalo růstově-inhibiční potenciál u nádorových buněk odvozených z nádorů prsu, tlustého střeva, krve a nervového systému. Protinádorové vlastnosti FLU u maligního melanomu však ještě do této doby nebyly ověřovány.

Cytotoxicita FLU byla testována u tří linií lidského maligního melanomu představující odlišné molekulární subtypy (A-375, BOWES a RPMI-7951) během 72 hodin pomocí WST-1 a x-CELLigence testů. Na základě jednotlivých hodnot IC_{50} získaných z jednotlivých buněčných linií byla pro další testování vybrána koncentrace FLU 1 μ M. Tato koncentrace byla relativně tolerována u normálních lidských kožních melanocytů (HEM), nicméně u melanomových buněk významně poškodila organizaci a funkci mikrotubulů, indukovala zástavu buněčného cyklu v G2/M fázi a vyvolala sérii změn v buněčné morfologii. Přítomnost dalších specifických změn (tzn. vznik obrovských mnohojaderných buněk, zvýšená exprese p21 a aktivace kaspázy-2) naznačila mitotickou katastrofu, po které následovala na kaspáze-3/7 závislá apoptotická buněčná smrt. Další analýzy prokázaly, že oba procesy nespojuje aktivovaná signální dráha TP53-BAX, a jejich podrobnější mechanismy budou tedy předmětem budoucích studií.

Protinádorová aktivita FLU byla také ověřována u melanomových buněk odvozených z explantátových kultur získaných ze vzorků melanomu od pacientů léčených ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. V pilotní studii prováděné na buňkách vzorku od vybraného pacienta FLU vyvolal inhibici růstu a cytotoxicitu, nicméně buňky na něj vykazovaly nižší citlivost (dle získané hodnoty IC_{50}). Dále testovaná koncentrace FLU 1 μ M vykazovala cytostatický účinek a vyvolávala velmi ojedinělé morfologické změny u exponovaných buněk, významně odlišné od dříve pozorované mitotické katastrofy a apoptózy u buněk melanomových linií.