

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Tomáš Smutný
Školitel: Doc. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D.
Název diplomové práce: Vliv statinů na Ras/Raf/ERK signální kaskádu v modelové linii A431

ERK signální kaskáda hraje důležitou roli v řadě buněčných funkcí např. buněčné proliferaci, diferenciaci a přežití. Její nepřiměřená aktivace je často přítomna u lidských nádorů. Signální kaskáda se skládá z mnoha proteinů, ale v popředí zájmu jsou zejména zástupci podrodiny Ras (zvláště H-Ras nebo K-Ras). Ras jsou GTPázy, které jsou podstatně zahrnuty v onkogenesi mnoha lidských nádorů. Klíčovou úlohu ve funkci Ras představuje jejich posttranslační modifikace lipidy (prenylace). Kovalentní vazba isoprenoidového zbytku k Ras podporuje jeho připojení k plasmatické membráně a umožňuje jeho funkci. Isoprenoidy vznikají během syntézy cholesterolu jako jeho prekurzory. Inhibice prenylace vede k inaktivaci Ras a ERK signální kaskády a potlačuje nekontrolovatelné buněčné dělení tam, kde je přítomna aktivační mutace Ras. Statiny, hypolipidemika, inhibitory enzymu HMG-CoA reduktázy, inhibují syntézu mevalonátu nezbytného pro tvorbu isoprenoidů.

V této práci jsme testovali, zda statiny (simvastatin, pravastatin, lovastatin atorvastatin) inhibují syntézu produktů pro prenylaci a následně potlačují aktivitu Ras a ERK signální kaskádu. Pro tento účel jsme využili ELISA assay a gene reporter assay. Pokusy byly provedeny na modelové buněčné linii A431 s velkým počtem receptorů epidermálního růstového faktoru. Přidání epidermálního růstového faktoru k buňkám A431 spouští ERK signální kaskádu a umožní studovat látky, které by mohly ovlivnit tuto kaskádu. Zjistili jsme, že statiny snižují aktivitu Ras v A431 buňkách a také snižují aktivitu transkripčního faktoru Elk1, který je zahrnut v ERK signální kaskádě. Dále jsme prostřednictvím CellTiter 96[®] AQueous One Solution Cell Proliferation Assay pozorovali vliv statinů na buněčnou aktivitu.

Výsledky by mohly podpořit terapeutický potenciál statinů u některých nádorů.