

SOUHRN

Úvod: Granzyme B (GrB) je klíčová sekreční proapoptotická proteaza cytotoxických lymfocytů a NK buněk. Specifický proapoptotický efekt GrB v nádorových buňkách může být neutralizován zvýšenou expresí *serpinuB9*. Gen *serpinuB9* může být transkripčně pozitivně ovlivňován účinkem některých cytokinů a estrogenem aktivovaných estrogenových receptorů- α (ER α). Cílem této práce bylo zhodnotit expresi SB9 a vyšetřit jeho aktivitu proti exogennímu aktivnímu GrB v buněčných liniích a tkáních nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), dále analyzovat expresi GrB mRNA v buněčných liniích a tkáních NSCLC a objasnit roli estradiolu-17 β (E2), některých interleukinů a DNA metylace v regulaci exprese SB9 v NSCLC buňkách.

Apoptosom je proapoptotická signalizační platforma, která aktivuje iniciátorovou prokaspásu-9. Aktivace apoptosomu je často porušená v různých typech nádorů, avšak molekulární podstata jeho inhibice je neznámá. *APIP* and *UACA*/nucling patří mezi endogenní regulátory apoptosomového aparátu. Cílem této práce bylo zjistit, zda DNA metylace může ovlivňovat transkripční regulaci exprese genů těchto dvou proteinů v buněčných liniích a tkáních NSCLC.

Metody: Následující metody byly použity v této práci: izolace a kvantifikace celkové RNA, real-time RT-PCR, Western blot analýza, enzymové analýzy, techniky kultivace buněčných liniích a imunocytochemie ER α .

Výsledky a závěry: NSCLC buňky exprimují SB9 na úrovni mRNA i proteinu. U některých buněčných linií a vzorků nádorové tkáně od operovaných pacientů byla exprese SB9 mRNA a proteinu signifikantně zvýšená. SB9 protein exprimovaný v NSCLC buňkách je funkční a vytváří s aktivním GrB ireversibilní komplex GrB•SB9. U pacientů s méně nediferencovaným adenokarcinomem byla zjištěna zvýšená exprese SB9. E2 a interleukiny -1 β , -6, and -18 nezvýšily expresi SB9 v NSCLC buňkách. Naopak, DNA metylace může významně snižovat expresi SB9 v některých buněčných liniích. Lze předpokládat, že DNA demetylační léky by mohly vést k rezistenci NSCLC buněk proti apoptóze zprostředkované GrB skrze silnou indukci exprese SB9. NSCLC buňky a tumory, které silně exprimují SB9, konstitutivně a/nebo inducibilně, mohou být chráněny proti apoptóze zprostředkované GrB. DNA metylace signifikantně neovlivňuje expresi genu *APIP* a *UACA* v NSCLC buňkách.