

Abstrakt

Terapeutická rezistence nádorů představuje závažný klinický problém. Z hlediska klinického průběhu vzniku rezistentního fenotypu rozlišujeme primární rezistenci, kdy nádor vůbec nereaguje na aplikovanou terapii, a rezistenci získanou neboli sekundární, kdy po počáteční klinické odpovědi terapie přestává působit a nádor se stává chemo,- radio- či imunorezistentní. Z hlediska mechanismu terapeutické rezistence můžeme rozlišit buněčně autonomní rezistentní fenotypy od případů rezistence založené na komplexních interakcích v rámci nádorového mikroprostředí. Experimentální modely terapeutické rezistence nádorů vychází často ze vstupního modelu senzitivních nádorových buněčných linií a selekce dceřiné chemo- či radiorezistentní buněčné linie po aplikaci příslušného cytostatika, popř. experimentální radioterapie. V rámci předkládané dizertační práce jsme odvodili dva unikátní modely terapeutické rezistence urotheliálního karcinomu.

První model vychází z námi odvozené buněčné linie BC44 a dceřiné buněčné linie BC44DoxoR, která byla odvozena prolongovanou expozicí mateřské buněčné linie BC44 doxorubicinu. Tato dceřiná chemorezistentní linie vykazuje buněčně autonomní fenotyp mnohočetné lékové rezistence, s rezistencí vůči čtyřem dalším cytostatikům (cisplatinu, metotrexát, vinblastin a gemcitabin). BC44DoxoR vykazuje signifikantně nižší proliferační aktivitu a nižší kapacitu mitochondriálního metabolismu. Ultrastrukturální analýza existenci mitochondriálně cílené autofagie, tzv. mitofagie. Naší hypotézou je, že právě tento mechanismus stojí za komplexním fenotypem BC44DoxoR buněk.

Komplexní procesy v nádorovém mikroprostředí zahrnují zejména interakce vlastních karcinomových buněk s nádorovým stromatem – fibroblasty či imunitními buňkami. Při odvození karcinomové buněčné linie BC44 se díky rozsáhlé infiltraci mezenchymálními buňkami podařilo současně ustanovit také buněčnou linii fibroblastů nazvanou BC44Fibr. Analýza odvozené buněčné linie fibroblastů ukázala diploidní karyotyp a potvrdila fenotyp aktivovaných nádorově asociovaných fibroblastů. Nezávislý buněčný model stromálních buněk byl etablován na základě buněčné linie vycházející z inflamatorního myofibroblastického tumoru močového měchýře. Kokultivace s nádorovými buněčnými liniemi senzitivními vůči určitému léčivu pak poskytla další model komplexní terapeutické rezistence. BC44 v kokultivaci s BC44Fibr tak například získávají specifickou rezistenci vůči cisplatině, která odráží interakci obou typů buněk. Stromální buňky přitom vystupují jako téměř univerzální původce terapeutické rezistence různých karcinomových buněk. Například etablovaná buněčná linie SW780, která je sama o sobě senzitivní k imunomodulační látce TRAIL, ztrácí svoji senzitivitu v kokultivaci s BC44Fibr. I v dalších analýzách vystupují BC44Fibr jako výrazná imunosupresivní nádorová populace. Současně s vývojem terapeutické rezistence dochází k aktivaci fenotypových charakteristik nádorových kmenových buněk, často považovaných za inherentně rezistentní buněčnou subpopulaci. Nádorové buňky, které jsou silně pozitivní na kmenové markery, jsou lokalizované v kontaktní zóně mezi nádorovými a stromálními buňkami. Je tedy evidentní, že stromální buňky výrazně přispívají k udržení kmenového a rezistentního fenotypu v heterogenní populaci nádorových buněk.