

ABSTRAKT

Autor: Veronika Barešová

Název: Ovariální karcinomy – vliv rodiny Rho kináz na migraci buněk

Diplomová práce

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Ovariální karcinomy jsou nejsmrtelnější skupinou gynekologických malignit. Je to dáno vysokou mírou metastázování a získané lékové rezistence. Metastázování je charakteristické změnou fenotypu buněk z epitelálního na mezenchymální, čímž dochází ke ztrátě kontaktů buňka-buňka a buňka-extracelulární matrix a následnému pohybu buněk. Tento proces se nazývá epitelo-mezenchymální tranzice a bylo prokázáno, že také hraje roli v rezistenci buněk na cisplatinu. Pohyb jednotlivých buněk je zprostředkován rodinou Rho GTPáz a můžeme ho rozdělit na mezenchymální a améboidní typ. Pro améboidní je typická signální dráha Rho/ROCK, kdežto mezenchymální pohyb je zprostředkován drahami Rac/Cdc42. V mé diplomové práci jsme sledovali rozdíly v expresi vybraných proteinů obou signálních drah v buňkách ovariálních karcinomů.

V první fázi jsme se zaměřili na porovnání buněčných linií A2780 a A2780cis, která je rezistentní na cisplatinu. Sledovali jsme markery améboidního pohybu RhoA a fosforylovaný myozin a markery pohybu mezenchymálního Wave-2, PAK a fosforylovaný PAK. Ve druhé fázi jsme sledovali vliv EGF a inhibitoru Y27632 na změnu pohybu buněk obou linií.

K dosažení našich cílů jsme kultivovali buňky v 3D prostředí kolagenního gelu, který simuluje přirozené prostředí nádorového stromatu v organismu. Po kultivaci a ovlivnění pomocí selektivního ROCK inhibitoru Y27632 a epidermálního růstového faktoru jsme vybrané proteiny imunochemicky obarvili a sledovali pod mikroskopem. Dále jsme izolovali aktivní formy Rho GTPáz, které jsme následně podrobili detekci pomocí western blotu.

Zjistili jsme, že rezistentní linie A2780cis exprimuje větší množství RhoA kinázy i fosforylovaného myozinu než senzitivní linie A2780. Linie A2780cis také vykazovala větší množství aktivních forem RhoA. To naznačuje, že buňky A2780cis využívají převážně améboidní typ pohybu a buňky linie A2780cis využívají pohyb mezenchymální. Dále z experimentů vyplynulo, že EGF snižuje expresi RhoA i fosforylaci myozinu a naopak zvyšuje fosforylaci PAK. Z toho lze usoudit, že potence přesmyk z améboidního pohybu na mezenchymální. Podobné účinky má i inhibitor Y27632, který snížil fosforylaci myozinu, doprovázenou poklesem aktivity RhoA a naopak zvýšil fosforylaci PAK.

Klíčová slova: ovariální karcinomy, améboidní pohyb, mezenchymální pohyb