

Abstrakt

Akutní myeloidní leukemie (AML) je vážné hematologické onemocnění, jehož léčba je velmi obtížná a pro mnohé pacienty stále neexistuje vhodný léčebný přístup. Jednou z možných terapií se zabývá tato diplomová práce, která se soustředí na inhibici interakce mezi proteiny p53 a Mdm2 pomocí malých molekul RITA a RG7112. Zvolené inhibitory cílí každý na jeden z interakčních partnerů: zatímco RG7112 se váže k Mdm2 ve vazebném místě pro p53, RITA interaguje s p53 v oblasti vazebné domény pro Mdm2. Byl vyšetřen vliv těchto inhibitorů na proliferaci a viabilitu různých AML linií a z nich byly vybrány dvě linie s opačnou citlivostí, MOLM-13 a MV4-11. Podrobnější analýzou byla potvrzena stresová reakce senzitivních linií a různé stupně změn proteinů souvisejících s apoptózou. Vedle buněčných linií byly analyzovány také vzorky primárních AML buněk. Dalším cílem bylo zavést metodu izolace a značení exosomů a vyšetřit typ interakce exosomů s buněčnou membránou. Pomocí konfokálního mikroskopu bylo zjištěno, že způsob interakce mezi buňkou a exosomy závisí na cílové buňce, nikoliv na druhu mateřské buňky. U AML linií dochází k těsnému kontaktu mezi buňkou a exosomy, zatímco linie K562 a HS-5 exosomy internalizují. Dále jsme zaznamenali odlišně exprimované exosomové markery (CD9, CD63, CD81) u exosomů z různých AML linií a primárních patientských vzorků, a též rozdílný obsah jadérekových a apoptotických proteinů. Poslední část práce spojuje předchozí dva dílčí cíle a testuje vliv přítomnosti exosomů na efekt zkoumaných inhibitorů. Nepozorovali jsme žádný vliv koinkubace s exosomy na přenos senzitivity či rezistence vůči RG7112 či RITA ani na úrovni buněčné proliferace a viability, ani z pohledu změn hladin proteinů.

Klíčová slova: AML, RITA, RG7112, p53-Mdm2 interakce, exosomy, inhibitory p53-Mdm2 interakce