

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Školící pracoviště Katedra biochemických věd

Doktorský studijní program Xenobiochemie a patobiochemie

Kandidátka / kandidát Mgr. Lucie Čermáková

Školitelka / školitel prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Konzultantka / konzultant RNDr. Bc. Eva Novotná, Ph.D.

Název disertační práce Modulace rezistence nádorových buněk prostřednictvím inhibice vybraných lidských karbonylreduktáz tyrosinkinázovými inhibitory

Vývoj rezistence na antracyklinová antibiotika (ANT), vysoce účinné chemoterapeutické látky, představuje v oblasti léčby rakoviny významný problém. Rezistence k ANT je kromě jiných mechanismů zprostředkována aktivitou karbonyl redukujících enzymů (CRE) z nadrodiny aldo-ketoreduktáz (AKR) a dehydrogenáz/reduktáz s krátkým řetězcem (SDR). Tyto enzymy přeměňují ANT na méně aktivní alkoholové metabolity, čímž snižují jejich terapeutickou účinnost. Kromě toho přispívají k rezistenci efluxní ATP-binding cassette (ABC) transportéry, které aktivně odčerpávají ANT z nádorových buněk, čímž snižují jejich intracelulární koncentrace.

Inhibitory Brutonovy tyrosinkinázy (BTKi) představují nový přístup k překonání rezistence na ANT. V klinických studiích byly BTKi testovány samostatně nebo v kombinaci se standardní chemoterapií zahrnující ANT. Náš výzkum se zaměřuje na hodnocení potenciálu BTKi (akalabrutinib, ACA; ibrutinib, IBR; tirabrutinib, TIR; zanubrutinib, ZAN) inhibovat vybrané CRE (CBR1, AKR1A1, 1B1, 1B10, 1C3, 7A2) a potencovat účinky daunorubicinu (DAUN) v nádorových buňkách.

V experimentální části byl zkoumán inhibiční potenciál vybraných BTKi na aktivitu příslušných rekombinantních CRE deaktivujících DAUN na jeho metabolit daunorubicinol (DAUN-OL). Ze všech studovaných CRE všechny BTKi vykazovaly nejvyšší inhibiční potenciál pro AKR1C3, zatímco ostatní studované reduktázy byly inhibovány nevýznamně. Tento inhibiční účinek byl ověřen také na buněčné úrovni pomocí buněčné linie HCT116 tranzientně transfekované AKR1C3. Všechny BTKi účinně inhibovaly aktivitu AKR1C3 v intaktních buňkách. Následné studie zkoumaly účinek kombinace DAUN s vybranými BTKi na úrovni nádorových buněčných linií s tranzientní nebo endogenní expresí AKR1C3.

Po kvantitativní analýze vztahu dávka/účinek vykazovaly všechny vybrané BTKi synergický účinek s DAUN a významně zvyšovaly cytotoxický účinek DAUN na nádorové buňky s tranzientní nadměrnou expresí AKR1C3. Tento synergický účinek byl ověřen na buněčné linii A549 s endogenní expresí AKR1C3. Kombinace DAUN s BTKi (ACA, IBR, ZAN) vedly ke snížení účinné dávky DAUN a zlepšení synergických parametrů v závislosti na dávce BTKi. Za účelem zjištění, zda je synergický účinek kombinace DAUN s vybranými BTKi (TIR, ZAN) ovlivněn změnami v expresi AKR1C3, byly zkoumány možné změny v hladinách mRNA AKR1C3.

Výsledky nenaznačily žádnou upregulaci mRNA AKR1C3. Dále byl zkoumán vliv vybraných BTKi (TIR, ZAN) na efluxní aktivitu ABC transportérů. Oba BTKi významně inhibovaly ABC transportéry (ABCB1, C1 a G2), což naznačuje další mechanismus boje proti rezistenci na ANT. Naše zjištění naznačují, že BTKi mohou sloužit jako účinné modulátory rezistence vůči ANT. Kombinovaná terapie představuje slibný přístup ke zlepšení klinických výsledků léčby nádorových onemocnění založené na ANT.