

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Student: Lukáš Slatinský

Školitel: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Název diplomové práce: Interakce vybraných protinádorových látek ze skupiny inhibitorů MAPK/ERK signalizační kaskády s ABC lékovými transportéry

ABCB1 (Pgp, P-glycoprotein) a ABCG2 (BCRP, breast cancer resistance protein) patří mezi membránové efluxní transportéry závislé na ATP, tzv. ATP-binding cassettes (ABC). Fyziologicky jsou exprimovány v buněčné membráně a chrání tkáň před potencionálně toxickými xenobiotiky, včetně léčiv. Tím, že jsou schopny odčerpávat širokou škálu cytotoxických léčiv, představují také jeden z obranných mechanismů nádorových buněk, což vede k selhávání léčby.

BRAF protein má důležitou regulační a signální roli v MAPK/ERK signalizační kaskádě ovlivňující buněčné dělení, diferenciaci a sekreci. Mutace BRAF vedou k nadměrné aktivitě MAPK/ERK kaskády v mnoha nádorových buňkách a stávají se tak cílem protinádorové terapie. Kobimetinib a dabrafenib jsou relativně nové protinádorové látky, inhibují uvedenou signální dráhu a používají se v léčbě melanomu s mutacemi BRAF.

Cílem této práce bylo zjistit, jestli inhibitory kináz kobimetinib a dabrafenib mohou inhibovat efluxní transportéry ABCB1 a ABCG2 a překonávat tak lékovou rezistenci na jejich substráty *in vitro*. Použitím metody Hoechst jsme studovali inhibiční vliv těchto látek na MDCKII liniích nadměrně exprimujících ABCB1 a ABCG2 transportéry. Dále byla použita metoda XTT, a to ke studiu antiproliferativního efektu

kobimetinibu a dabrafenibu a jejich vliv na cytotoxicitu daunorubicinu (modelový substrát ABCB1) a mitoxantronu (modelový substrát ABCG2).

Zjistili jsme, že kobimetinib a dabrafenib jsou schopny inhibovat ABCB1 a ABCG2 efluxní transportéry u MDCKII-ABCB1 a MDCKII-ABCG2 buněk. Kobimetinib vykazoval větší inhibiční efekt na ABCB1, v porovnání s ABCG2. Naproti tomu dabrafenib inhiboval více ABCG2.

Obě látky, kobimetinib a dabrafenib, jsou schopny překonávat rezistenci na daunorubicin u MDCKII-ABCB1 buněk. Dabrafenib je navíc schopný překonávat rezistenci i na mitoxantron u MDCKII-ABCG2 buněk. Také jsme zjistili, že ani přítomnost ABCB1, ani ABCG2 transportérů neovlivnila rezistenci na kobimetinib u MDCKII-ABCB1 a MDCKII-ABCG2 buněk, z čehož vyplývá, že tyto transportéry nehrají roli ve vzniku rezistence na kobimetinib. Citlivost použitých buněčných linií vůči dabrafenibu (v testovaných koncentracích do 50 μM) byla minimální, a to bez ohledu na přítomnost ABCB1 nebo ABCG2.

Prokázali jsme, že obě testované protinádorové látky kobimetinib a dabrafenib jsou schopné inhibovat ABCB1 a ABCG2 a překonávat tak lékovou rezistenci zprostředkovanou oběma transportéry. Tyto výsledky mohou být využity při optimalizaci terapie zahrnující použití kobimetinibu a dabrafenibu u pacientů s rezistentním melanomem.