

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Karolína Nálevková

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

Konzultant: PharmDr. Aleš Šorf, Ph.D.

Název diplomové práce: Interindividuální variabilita exprese vybraných membránových transportérů a jejich vliv na prognózu a terapii pacientů s akutní myeloidní leukémií.

Akutní myeloidní leukémie je maligní nádorové onemocnění hematopoetického systému. Dostupná léčba stále nepřináší dostatečné výsledky, jelikož pěti let od stanovení diagnózy se dožívá pouze necelých 30 % pacientů. Základní indukční terapii už dlouhá desetiletí tvoří kombinace cytarabinu s antracyklinem, nazývaná také jako „7+3“ terapie. Díky karyotypizaci a imunofenotypizaci pacientů se v posledních pár letech potvrdila velká heterogenita onemocnění, což podpořilo i rozvoj cílených léčiv. Na výsledek terapie mohou mít vliv i další faktory, například transportéry podílející se na přestupu léčiv či esenciálních molekul přes buněčné membrány. V této práci jsem se proto věnovala zejména vlivu vybraných membránových přenašečů OCTN1, OCTN2 a ABCC4 na prognózu onemocnění a terapii pacientů.

Nejprve jsme si na mononukleárních buňkách izolovaných z krve *de novo* diagnostikovaných pacientů s AML pomocí RT-PCR a ddPCR metody určili množství transkriptů studovaných genů. Největší interindividuální variabilita se ukázala u OCTN1 a ABCC4 transportéru, jakožto influxního a efluxního přenašeče pro cytarabin. Na základě těchto hodnot jsme vytvořili Kaplan-Meierovy křivky přežití a zjistili, že exprese OCTN1 transportéru se jeví jako prediktivní pro délku přežití. Výsledky z RT-PCR a ddPCR metody jsme dále hodnotili v kombinaci s klinickými daty z Fakultní nemocnice Hradec Králové a hledali možné souvislosti. Nejzajímavější fakt, který se prozatím v žádné jiné studii neobjevil, je ten, že přítomnost FLT3 mutace je spojená s nižší expresí právě prediktivního OCTN1 transportéru. U NPM1 mutace, s pozitivním prognostickým vlivem, se žádný trend neobjevil. U klasifikace ELN, která je z prognostického pohledu nejaktuálnější a nyní nejvíce rozšířená, jsme zaznamenali trend, že pacienti zařazení do nepříznivé kategorie mají výrazně vyšší expresi OCTN2 transportéru. Tento fakt si vysvětlujeme jako obranný mechanismus buňky, která se velmi rychle dokáže adaptovat na okolní prostředí a vyšší potřebu L-karnitinu pro oxidaci mastných kyselin a produkci energie.

Vývoj nových cílených selektivních léčiv je na vzestupu, právě díky konkrétnějšímu prozkoumání patofyziologie nemoci. Z cílených léčiv na FLT3 mutaci jsou v ČR schváleny zatím pouze dvě – a to midostaurin a gilteritinib. Kvůli zjištěnému vztahu mezi OCTN1 a FLT3 mutací se nabízí hypotéza ohledně ovlivnění OCTN1 transportéru inhibitory FLT3 – a to z pohledu jeho exprese i funkce. S využitím modelové MDCKII-OCTN1 linie jsme zjistili, že ani jedno ze schválených léčiv funkčně neovlivňuje OCTN1 transportér. Při expozici MV4-11 buněk, které nesou FLT3 mutaci, léčivům jsme zaznamenali signifikantní zvýšení u OCTN2 transportéru, a zároveň signifikantní, i když mírné, zvýšení OCTN1 transportéru.

Výsledky naší práce ukazují významnou souvislost OCTN1 transportéru s přežitím AML pacientů léčených cytarabinem. Vyplývá z nich možná úprava terapeutického schématu pacientů s AML a zároveň FLT3 mutací, kdy se nabízí do iniciační fáze indukční terapie přidat selektivní inhibitor FLT3 mutace. Mohlo by dojít ke zvýšení exprese OCTN1 transportéru, a tak k lepším terapeutickým výsledkům. Je ovšem nutné se těmto teoretickým závěrům dále věnovat a ověřit je.