

ABSTRAKT V SLOVENSKOM JAZYKU

Kandidát: Mgr. Simona Suchá

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

Názov dizertačnej práce: Mechanizmy rezistencie v terapii akútnej myeloidnej leukémie

Akútna myeloidná leukémia (AML) patrí medzi hematologické ochorenia známe pre svoju rozsiahlu heterogenitu, nedostatočnú odpoveď na liečbu a vysokú mieru relapsov. Terapia častokrát zlyháva kvôli mimoriadne rezistentným leukemickým klonom prítomným v čase diagnózy. Vďaka ich schopnosti vyhnúť sa terapii sa môže ochorenie voľne šíriť ďalej v tele. Dôkladná charakteristika týchto buniek je preto kľúčová v ich úspešnom odhalení a následnom zničení. AML bunky však dokážu nadobudnúť rezistenciu na prítomné látky i počas prebiehajúcej liečby, a to vďaka ich dlhodobému vystaveniu týmto látkam. Extrémne vysoká adaptabilita leukemických buniek im umožňuje prežiť zakaždým, keď sa stres v podobe liečiv objaví. Preto je nevyhnutné odhaliť molekulárne mechanizmy, ktoré bunky využívajú k tomu, aby sa týmto vonkajším vplyvom prispôbili.

Na základe týchto poznatkov boli stanovené dva primárne ciele tejto práce. Prvým bolo zistiť klinickú relevanciu ABC efluxných transportérov v AML a vyhodnotiť možný vplyv cielenej terapie na chemoterapiu. Dôraz bol kladený na liečivá zo skupiny FLT3 inhibítorov (midostaurin) a CDK4/6 inhibítorov (abemaciclib, palbociclib, ribociclib). Druhým cieľom bolo charakterizovať zmeny v transkriptóme a proteóme AML bunkovej línie, ktorá si časom vybudovala rezistenciu voči gilteritinibu, ďalšiemu liečivu zo skupiny FLT3 inhibítorov. Jedným z mechanizmov, ktoré boli študované ďalej boli lyzozómy a ich podiel na rezistencii voči gilteritinibu.

V prvej časti tejto práce sme sa zamerali na ABCB1 transportér známy pre svoj značný podiel na liekovej rezistencii. K tomu boli využité mononukleárne bunky vyizolované z periférnej krvi pacientov s *de novo* diagnostikovanou AML. U pacientov, ktorí nereagovali na indukčnú liečbu pozostávajúcu z antracyklínu a cytarabínu, bola zistená zvýšená expresia *ABCB1* génu. U týchto pacientov nebol dosiahnutý stav kompletnej remisie. Pacienti s vysokou génovou expresiou *ABCB1* boli prevažne CD34 pozitívni a patrili do skupiny pacientov s nepriaznivými cytogenetickými zmenami. Aktivita ABCB1 bola efektívne zablokovaná prostredníctvom všetkých štyroch testovaných inhibítorov (midostaurin, abemaciclib, palbociclib, ribociclib), čo

sa prejavilo i na zvýšenom intracelulárnom množstve antracyklínov. Súčasne tak bol ABCB1 identifikovaný ako jeden z možných sekundárnych terapeutických cieľov týchto liečiv. Navyše kombinácia midostaurinu a antracyklínu spôsobila prechod leukemických buniek s nadmernou expresiou ABCB1 do apoptózy. Taktiež bol odhalený priamy vplyv miR-9 na efluxnú aktivitu ABCB1, ktorá sa podieľa na posttranskripčnej regulácii ABCB1 v AML. Výsledky tejto časti teda naznačujú, že génová expresia a taktiež funkčná aktivita ABCB1 súvisia s rezistenciou AML pacientov, a že miR-9 by mohol napomôcť v identifikácii týchto pacientov v čase diagnózy.

Druhá časť tejto práce sa zaoberala bunkovou líniou rezistentnou na gilteritinib, ktorá bola vytvorená v našich laboratóriách a nesie označenie HL-60 G75. Bunky dlhodobo kultivované v prítomnosti gilteritinibu si časom vytvorili rezistenciu na túto látku, hoci len dočasnú, keďže už štyri týždne po vysadení gilteritinibu sa rezistencia kompletne stratila. Transkriptóm a proteóm HL-60 G75 a HL-60 WT, bunkovej línie senzitívnej na gilteritinib, sa pritom výrazne líšili. Napriek tomu, že sa na vytvorení a udržaní rezistencie podieľalo niekoľko rôznych bunkových mechanizmov, niektoré z nich sa prejavili viac ako iné. Jedným z najviac deregulovaných boli procesy súvisiace s lyzozómami. Mikroskopická a cytometrická analýza s priamym označením lyzozómov odhalila výrazne vyšší počet lyzozómov v HL-60 G75, ktorý však klesol okamžite po odobraní gilteritinibu. Pre overenie schopnosti lyzozómov sekvestrovať sa využil sunitinib, čo je liečivo s podobným mechanizmom účinku i fyzikálno-chemickými vlastnosťami ako gilteritinib, avšak na rozdiel od gilteritinibu fluoreskuje. V HL-60 G75 sa všetok sunitinib sekvestroval v lyzozómoch. Keď sa týmto rezistentným bunkám odobral gilteritinib z kultivačného média, sunitinib zmenil svoju lokalizáciu a prednostne sa vyskytoval v cytozole. Tieto výsledky naznačujú, že fluktuácia množstva a/alebo aktivity prítomných lyzozómov je závislá na prítomnosti gilteritinibu. Hoci presný mechanizmus, ktorým k tomuto javu dochádza, nie je známy, zdá sa, že gilteritinib by mohol priamo alebo nepriamo ovplyvňovať biogenézu lyzozómov.

Výsledky tejto práce prispievajú k lepšiemu porozumeniu mechanizmov rezistencie leukemických buniek, ktorá i v dnešnej dobe predstavuje jednu z najväčších prekážok farmakoterapie AML.