

Ústav hematologie a krevní transfuze: Oddělení proteomiky

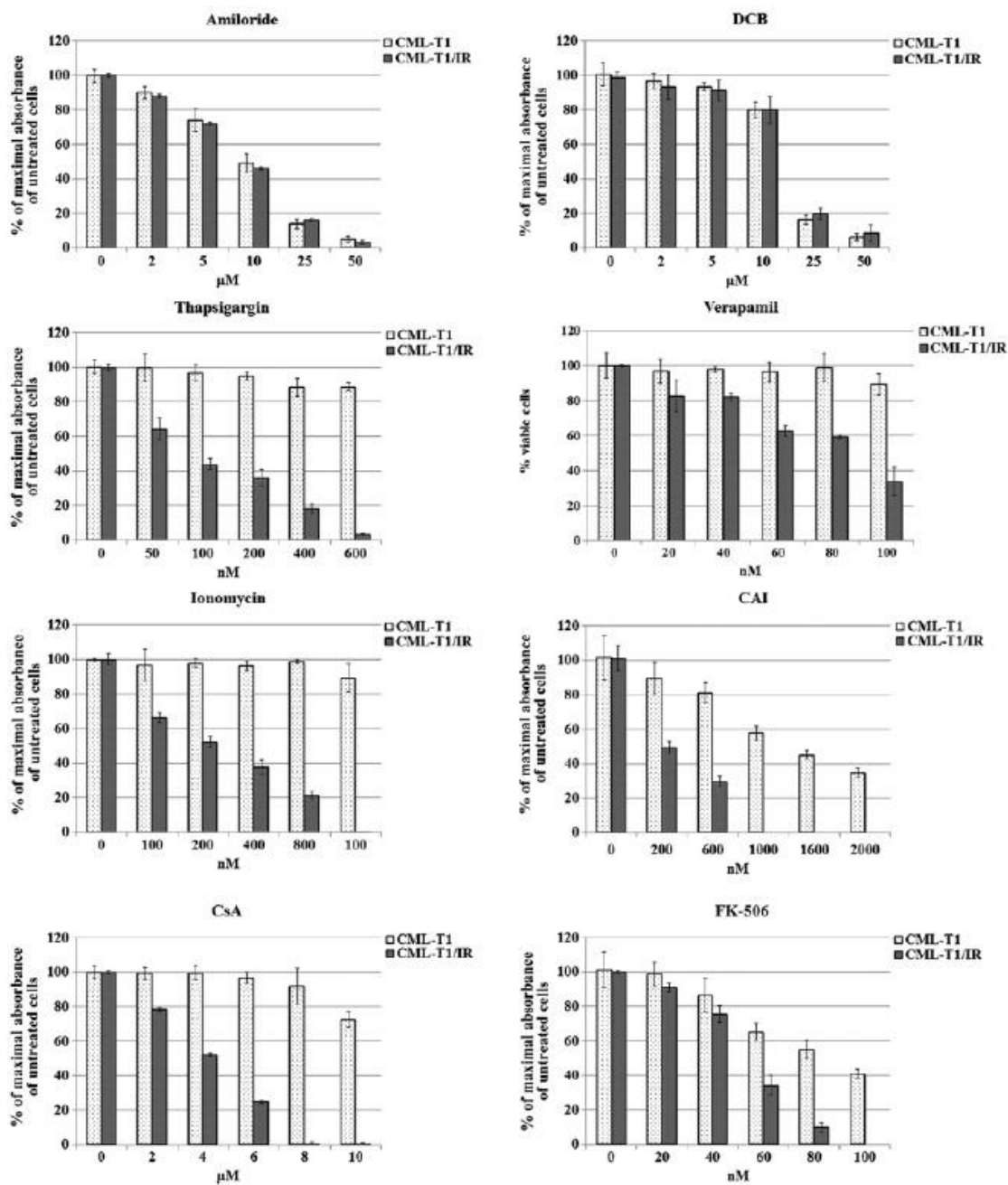
Hledání zásahových míst v buňkách chronické myeloidní leukemie rezistentních k běžné terapii

Jednou z hlavních příčin neúspěchu protinádorové terapie obecně je vznik rezistence na běžně používaná chemoterapeutika. V případě chronické myeloidní leukemie (CML) se jedná především o rezistenci na tyrozin kinázové inhibitory např. imatinib (IMA).

Onemocnění CML předchází translokace chromozomů 9 a 22 způsobující vznik tzv. Filadelfského chromozomu, který kóduje fúzní onkogen BCR-ABL. Produktem tohoto genu je tyrozinová kináza Bcr-Abl aberantně působící na signální a proliferační dráhy esenciální pro CML buňky. Prognóza pacientů s CML se významně zlepšila po zavedení IMA, inhibitoru Bcr-Abl, do klinické praxe. Nicméně téměř 40 % pacientů vykazuje proti léčbě rezistenci. Ta je většinou způsobena bodovými mutacemi v genu BCR-ABL kódující části proteinu zodpovědné za vazbu chemoterapeutika nebo jinými mechanismy zahrnující např. amplifikaci genu BCR-ABL. Procesem analogickým s tím, co se děje v pacientově těle, jsme odvodili několik buněčných linií s mutacemi v BCR-ABL (CML-T1) a bez mutací (K562) rezistentních na podání inhibitorů tyrozinových kináz (CML-T1 IR a K562 IR).

Pomocí technik elektroforetické a chromatografické separace, hmotnostní spektrometrie, imunochemie, fluorescenční mikroskopie či průtokové cytometrie porovnáváme tyto buňky z hlediska jejich proteinové skladby s původními buňkami senzitivními na léčbu. Naším hlavním cílem je nalézt proteiny, signální dráhy či povrchové markery, které by v budoucnu mohly sloužit jako ukazatel vývoje onemocnění nebo specifické zásahové místo pro účinnou a specifickou likvidaci rezistentních CML buněk.

V naší laboratoři jsme tímto přístupem odhalili u CML-T1 IR v porovnání s CML-T1 významně zvýšenou hladinu proteinu NHERF1. Z povahy NHERF1 jsme vytypovali jako zásahové místo homeostázu vápníku a Wnt signalizaci. Na základě zvýšené koncentrace vápenatých iontů u CML-T1 IR jsme aplikovali klinicky používané látky působící jako modulátory homeostázy vápníku a prokázali jejich selektivní toxický efekt na CML-T1 IR (Obr. 1). Tato studie je příkladem toho, že moderní proteomické techniky jsou vhodným nástrojem pro objasnění původu rezistence nebo odhalení terapeutického zásahového místa. Aplikace ověřených postupů má potenciál objevovat neznámé mechanismy, nová léčiva a otevírá cestu k individualizované léčbě CML pacientů s rezistencí na běžně používaná chemoterapeutika [1].



Obr. 1.: Efekt selektivních inhibitorů na viabilitu CML-T1 a CML-T1 IR buněk. Viabilita buněk byla stanovována spektrofotometricky 3 dny po podání inhibitorů pomocí MTT esaje. Hodnota absorbance vzorku kontrolních senzitivních buněk CML-T1 byla definována jako 100 %. Data byla naměřena na třech biologických vzorcích v technických triplikátech.

Publikace:

[1] Toman O, Kabickova T, Vit O, Fiser R, Polakova KM, Zach J, Linhartova J, Vyoral D, Petrak J. Proteomic analysis of imatinib-resistant CML-T1 cells reveals calcium homeostasis as a potential therapeutic target. *Oncol Rep.* 2016 Sep;36(3):1258-68. doi: 10.3892/or.2016.4945. Epub 2016 Jul 18. PMID: 27430982; PMCID: PMC4968618.