

Abstrakt

Myelodysplastický syndrom (MDS) s delecí dlouhého raménka chromozomu 5 (5q-syndrom, del(5q)) může být charakterizován anémií, makrocytózou, normálními nebo zvýšeným počtem krevních destiček a hypolobulovanými megakaryocyty v kostní dřeni. 5q-syndrom se řadí mezi nízko rizikové MDS, které ojediněle transformují do akutní myeloidní leukémie (AML). 5q-syndrom je spojen se starším věkem a převládá u žen. Dalším znakem je transfúzní závislost, která je léčená léky stimulaujícími erytropoézu (ESA), například erythropoetin (EPO). Navíc, odpověď pacientů je jenom 30-60% s mediánem odpovědi ~24 měsíců.

Druhou linií léčby je lenalidomid (LEN), což je derivát teratogenního analogu thalidomid. LEN zvyšuje erytropoézu a inhibuje růst erytroidních progenitorových buněk del(5q) in vivo a nemá signifikantní efekt na růst normálních progenitorových buněk CD34+ nebo cytogeneticky normálních progenitorových buněk u MDS se klony del(5q).

LEN je využíván jako léčba u mnohočetného myelomu, myelodysplastického syndromu a lymfomů. LEN je drahý lék a ne u každý MDS pacient odpovídá na terapii. Toto je důvod proč je důležité najít biomarker pro určení úspěšné terapie. Některé studie u mnohočetného myelomu ukazují, že cereblon může být tímto biomarkrem, který je zapotřebí. Cereblon (CRBN) je součástí komplexu E3 ubiquitin ligázy CRL4 (cullin 4-RING E3 ubiquitin ligase complex) obsahující CUL4A (cullin-4A), DDB1 (damaged DNA binding protein 1) a ROC1 (regulator of cullins 1). Funkce CRBN v komplexu CRL4 jako substrátového receptoru slouží k připojení proteinů pro polyubikvitinaci a následnou degradaci v 26S proteazomu. V nepřítomnosti lenalidomidu, E3 ubiquitin ligáza CRL4^{CRBN} ubikvitinuje CRBN, DDB1 a některé endogenní proteiny. LEN se váže na specifickou hydrofobní kapsu v CRBN exonech 10 a 11 a mění specificitu CRL4^{CRBN}. U mnohočetného myelomu, cílem CRBN pro ubikvitinaci jsou proteiny Ikaros a Aiolos a u myelodysplastického syndromu je cílem kasein kináza 1A1.

V studiích týkajících se mnohočetného myelomu bylo popsáno, že vysoké hladiny CRBN exprese vedou k dobré odpovědi na léčbu LEN a zkvalitňují život pacientů. Nízké hladiny CRBN exprese vedou k selhání terapie a progresi do vysoko rizikových MDS (MDS-EB-1 nebo MDS-EB-2) nebo AML. Někteří pacienti přestanou odpovídat na léčbu LEN a v těchto případech je přidán EPO anebo EPO a prednison (PRED), které vykazují dočasný účinek terapie.

V mé práci jsme se hlavně zaměřili na potvrzení CRBN jako prognostického faktoru u MDS vzorků jak na mRNA, tak na proteinové úrovni. V první části studií jsme potvrdili, že vysoká hladina CRBN mRNA a proteinu CRBN v mononukleárních buňkách izolovaných z periferní krve a kostní dřeně je spojená s velmi dobrou odpovědí a snížená hladina CRBN mRNA a proteinu CRBN vede k selhání LEN terapie nebo kombinace LEN s dalšími látkami. Naše výsledky jsme potvrdili s doktory a výsledky měření hladiny hemoglobinu. Objevili jsme, že hladina CRBN jako proteinu u pacientů s 5q- syndromem předpovídá rychlejší odpověď na LEN terapii než hladina CRBN mRNA. Potvrdili jsme, že LEN se váže na CRBN v exonech 10 a 11. Bylo důležité potvrdit vazebné místo LEN, protože když chybí exon 10 a 11, LEN se nemůže vázat a také to značí selhání léčby. Sardnal a jeho kolegové popsali, že A/G polymorfismus by mohl být prognostický faktor u MDS pacientů s normálním karyotypem. Bohužel, nepotvrdili jsme toto tvrzení.

V druhé části této práce jsme se soustředili na úlohu Nrf2 (nuclear factor erythroid-derived 2-like 2). Nrf2 se váže na domnělé vazebné místo v CRBN promotoru a Nrf2 stimuluje transkripci CRBN genu za podmínek hypoxie/ reoxygenace v neuronových buňkách. Potvrdili jsme náš předpoklad, že exprese Nrf2 sleduje nebo předbíhá hladiny CRBN mRNA u většiny MDS vzorků na EPO nebo LEN+EPO terapii. Hladina Nrf2 mRNA nenásledovala CRBN mRNA v případe selhání LEN+EPO terapií.

Třetí část byla experimentální na liniích buněk MDS-L a SKM-1, kde jsme sledovali účinnost oxidu arsenitého (ATO). Podle publikací, ATO je účinný v kombinaci s jinými léky. Vytvořili jsme 19 skupin, kde jsme sledovali LEN, EPO, PRED a ATO samotné nebo jejich kombinace. Naše výsledky nesouhlasily s předpokládanými hladinami exprese analyzovaných genů na mRNA nebo proteinové úrovni.