

Abstrakt

Chronická myeloidní leukémie (CML) je myeloproliferativní onemocnění hematopoézy charakterizované expresí konstitutivně aktivní tyrozin kinázy BCR-ABL. Ačkoli vývoj tyrozin kinázových inhibitorů (TKI) jako je imatinib zásadním způsobem zefektivnil léčbu CML, u určité skupiny pacientů vzniká rezistence na TKI léky. Nejčastější příčinou rezistence jsou bodové mutace v genu *BCR ABL1*, méně pak i další na mutaci nezávislé mechanismy. Růst rezistentních CML buněk v přítomnosti TKI léků je důsledkem adaptivních změn v jejich metabolismu. Rezistence může být udržována vnějšími signály, mezi nimiž sehrávají důležitou roli exozomy, malé membránové vezikuly uvolňované (rezistentními) buňkami.

Cílem této práce bylo proteomicky charakterizovat dvě buněčné linie CML (senzitivní a rezistentní na imatinib) a také exozomy, produkováné rezistentními buňkami. Identifikace metabolických drah esenciálních pro růst rezistentních buněk v prostředí imatinibu umožňuje zacílit jejich metabolismus klinicky dostupnými léky, což nabízí potenciál pro jejich využití v (personalizované) léčbě. Proteomickou analýzou exozomů z rezistentních buněk lze identifikovat specifické povrchové membránové proteiny využitelné jako klinicky relevantní diagnostické markery rezistence na imatinib.

Pro tyto účely byly vyvinuty a analyzovány dvě buněčné linie CML, senzitivní a rezistentní na imatinib. U buněk CML-T1^{IR} rezistentních na imatinib byla zjištěna zvýšená exprese regulačního faktoru 1 Na⁺/H⁺ výměníku (NHERF1), který může ovlivňovat pH cytosolu, vnitrobuněčnou redistribuci Ca²⁺ nebo WNT signální dráhu. Testování selektivní toxicity odhalilo, že modulátory Ca²⁺ homeostázy, blokátory kalciových kanálů a inhibitory intracelulární Ca²⁺ dependentní signalizace byly více toxické pro CML-T1^{IR} buňky rezistentní na imatinib. Na dalším modelu buněk rezistentních na imatinib (K562^{IR}) byla prokázána silně zvýšená exprese transkripčního faktoru STAT3. Signalizace zprostředkovaná STAT3, signální dráha růstového faktoru IGF1 a adptorového proteinu IRS-1 byly navrženy jako potenciální terapeutické cíle. Bylo také prokázáno, že exozomy produkováné imatinib rezistentními K562^{IR} buňkami jsou internalizovány buňkami K562 citlivými na imatinib a navodit jejich následné přežívání v imatinibu. Proteomická analýza odhalila silné nabožení tří membránových proteinů IFITM3, CD146 a CD36 v exozomech produkováných K562^{IR} buňkami. Průtoková cytometrie potvrdila nabožení těchto proteinů i na povrchu rezistentních K562^{IR} buněk. Tyto výsledky naznačují, že proteomická analýza je efektivním nástrojem pro navrhování potenciálních terapeutických cílů a klinicky cenných diagnostických markerů v buňkách CML rezistentních na TKI.