

Souhrn

Molekulárním znakem lymfomu z buněk pláště (MCL) je přítomnost charakteristické translokace t(11;14), v jejímž důsledku dochází k transkripční aktivaci genu pro cyklin D1. Overexprese cyklinu D1 jako klíčové molekuly regulace buněčného cyklu pak poskytuje buňkám proliferační výhodu, která se uplatňuje v patogenezi MCL. Proliferační aktivita buněk je pak významným a prvním biologickým faktorem v predikci prognózy pacientů s MCL.

Zavedli a vypracovali jsme optimální postup kvantitativní analýzy exprese cyklinu D1 ve vzorcích lymfomů pomocí PCR v reálném čase. Overexprese cyklinu D1 jsme detekovali u 97 % vzorků MCL. Zavedená metodika poskytla podporu diferenciální diagnózy MCL s vysokou spolehlivostí, včetně diagnózy lymfomů v extranodální lokalizace. Měření hladiny exprese mRNA cyklinu D1 navíc poskytlo nástroj molekulárního studia klíčové molekulární patogeneze onemocnění MCL.

Prokázali jsme přímý vztah mezi t(11;14), overexpresí mRNA cyklinu D1 a patologickou syntézou proteinů regulujících buněčný cyklus u buněk MCL. Hladina mRNA cyklinu D1 dále korelovala s hladinou proteinů regulujících buněčný cyklus a sloužila pro kvantitativní řízení buněčného cyklu prostřednictvím regulované hladiny cyklinu D1 určující míru buněčné proliferace a naznačuje patogenezi MCL:

t(11;14) → overexprese mRNA cyklinu D1 → tvorba proteinu cyklinu D1 → „upregulace“ přechodu z fáze G1 do fáze S buněčného cyklu → zvýšená proliferace.

Metodika zároveň poskytla molekulární cíl sledování dynamiky onemocnění v kostní dřeni (KD). Detekovaná hladina cyklinu D1 odpovídala infiltraci KD buňkami MCL u 97 % vzorků KD. Korelace s klinickým stavem onemocnění ukázala, že pokles a vzestup hladiny cyklinu D1 v KD doprovází remisi, respektive relaps onemocnění. Prokázali jsme, že měření hladiny exprese cyklinu D1 jako nádorového markeru onemocnění v KD poskytuje významnou informaci o rozsahu onemocnění a reakci na terapii na molekulární úrovni a je vhodné pro sledování dynamiky onemocnění v KD, včetně minimální reziduální nemoci.

Zavedli jsme techniku přesného a objektivního stanovení exprese proliferačních markerů, které bylo dosud možné sledovat pouze semikvantitativně pomocí imunohistochemického značení na úrovni proteinů, ne však pro klinické použití s dostatečnou spolehlivostí. Potvrdili jsme spolehlivost, reprodukovatelnost a objektivitu metodiky PCR v reálném čase pro spolehlivé stanovení míry exprese proliferačních markerů, které jsou významné v predikci prognózy pacientů s MCL. Pozorovali jsme variabilitu proliferační aktivity buněk v jednotlivých vzorcích MCL, která odpovídala rozdílné prognóze onemocnění systémových a extranodálních manifestací. Zavedená metodika poskytla klinický nástroj a umožnila objektivní sledování klinických a prognostických faktorů na kvantitativní molekulární úrovni, jak doporučují rámce mezinárodních projektů „Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project.“