

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. Overexpresi cyklinu D1 jsme detekovali u 97% vzorků MCL. Zavedená metodika poskytla podporu diferenciální diagnózy MCL s vysokou spolehlivostí, včetně diagnostiky lymfomů extranodální lokalizace. Měření hladiny exprese mRNA cyklinu D1 navíc poskytlo nástroj molekulárního studia klíčové molekuly v patogenezi onemocnění MCL.

Prokázali jsme přímý vztah mezi t(11;14), overexpresí mRNA cyklinu D1 a patologickou syntézou proteinu cyklinu D1 v buňkách MCL. Hladina mRNA cyklinu D1 dále korelovala s hladinou mRNA proliferačních markerů, což svědčí pro kvantitativní řízení buněčného cyklu prostřednictvím regulované hladiny cyklinu D1 určující míru buněčné proliferace a naznačuje patogenní dráhu 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 rozvoji onemocnění a reakci na terapii na molekulární úrovni a je vhodné pro sledování dynamiky onemocnění v KD, včetně minimální residuální choroby.

Zavedli jsme techniku přesného a objektivního stanovení exprese proliferačních markerů, které bylo dosud možné hodnotit pouze semi-quantitativně pomocí imunohistochemického značení proteinu, což není pro klinické potřeby zcela dostačující. Potvrdili jsme spolehlivost, reprodukovatelnost a objektivizaci metodiky PCR v reálném čase pro hodnocení míry exprese proliferačních markerů, které jsou významné v predikci prognózy pacientů s MCL. Pozorovali jsme variabilitu proliferační aktivity u vzorků lymfomů, což může být ve vztahu k heterogenní prognóze onemocnění vyšetřovaných pacientů. Zavedená metodika splňuje požadavky klinických studií a otvírá možnost rutinního vyšetření prognostických faktorů na kvantitativní úrovni, jak je doporučeno v rámci mezinárodních projektů „Lymphoma/ Leukemia Molecular Profilig Project.“