

1 ABSTRAKT

Agresivní nehodgkinské lymfomy vycházející z B-lymfocytů (B-NHL) představují heterogenní skupinu vzácných hematologických malignit vznikajících nádorovou transformací tzv. periferních lymfocytů v průběhu jejich diferenciaci v sekundárních lymfatických orgánech. Difúzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma) a lymfom z pláštěvých buněk (MCL, mantle cell lymphoma) jsou agresivní typy B-NHL. V jejich patogenezi se uplatňuje zejména narušení mechanismů programované buněčné smrti, buněčného cyklu či oprav poškozené DNA. Identifikovány byly také abnormálně aktivované signalizační dráhy, které vedou ke zvýšení proliferace nádorových buněk či inhibici apoptózy. Poznání těchto mechanismů umožňuje vyvíjet a experimentálně testovat nová protinádorová léčiva, která cíleně blokují onkogenní kaskády rekurentně nalézané u jednotlivých typů B-NHL.

MCL je agresivní typ B-NHL s nepříznivou prognózou. *In vivo* modely lidského MCL pro experimentální terapii tohoto onemocnění však dosud chyběly. Zavedli a charakterizovali jsme několik modelů lidského MCL pomocí xenotransplantace primárních buněk a ustálených linií MCL do imunodeficitních myší. Prokázali jsme, že buňky přiložené a proliferující v myších tkáních jsou biologicky odlišné a mají komplexní změny genové exprese, fenotypu a senzitivity k cytotoxickým látkám ve srovnání s *in vitro* rostoucími MCL buněčnými liniemi (práce č.1). Tyto závěry mohou být významným přínosem pro preklinický výzkum.

Randomizovaná klinická studie Evropské skupiny pro MCL prokázala, že alternace režimu R-CHOP (rituximab, cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, prednison) s režimem R-DHAP (rituximab, dexamethazon, cisplatina, HDAC) signifikantně zlepšuje celkové přežití pacientů s MCL ve srovnání s chemoterapií R-CHOP. Dosud však nebylo jasné, která komponenta režimu DHAP (cisplatina, cytarabin, či jejich kombinace) vede ke zlepšení přežívání pacientů s MCL. Nedávno publikované výsledky Nordické lymfomové skupiny ukázaly, že monoterapie HDAC (v kombinaci s rituximabem) není u mladších pacientů s agresivními formami MCL dostatečně efektivní (studie byla předčasně ukončena). S využitím námi odvozených myších modelů lidského MCL jsme experimentálně ukázali, že cisplatina v monoterapii či kombinace cisplatin s cytarabinem je účinnější ve srovnání s cytarabinem podávaným v monoterapii (práce č.2). Naše závěry tak potvrzují závěry klinické studie Nordické lymfomové skupiny, a to

že HDAC podávaný v monoterapii není dostatečně účinnou léčbou u agresivních forem MCL.

U části DLBCL nacházíme zvýšenou expresi antiapoptotického proteinu BCL2 (B-cell lymphoma 2), jež je asociována s nepříznivou prognózou. Expresní profil a prognostický význam dalších antiapoptotických proteinů rodiny BCL2 jako je MCL1 (myeloid-cell leukemia sequence 1) a BCL-XL (B-cell lymphoma-extra large) pro přežívání buněk DLBCL nebyl dosud systematicky zkoumán. Cílenou inhibicí jednotlivých antiapoptotických proteinů jsme zjistili, že DLBCL může být rozdělen na biologicky odlišné podskupiny podle závislosti na antiapoptotickém proteinu BCL2 a/nebo MCL1 (viz práce č.1). Role proteinu BCL-XL se zdá být minoritní. Podskupina BCL2 pozitivních DLBCL obsahuje jak BCL2-, tak MCL1-dependentní případy, které mohou být farmakologicky inhibovány pomocí cíleného nízkomolekulárního inhibitoru BCL2 proteinu s názvem venetoclax (ABT-199 / GDC0199), rostlinného alkaloidu homoharingtoninu (HHT, snižuje expresi MCL1), či jejich kombinace (s významným synergickým efektem), podskupina BCL2-negativních DLBCL se zdá být převážně závislá na proteinu MCL1. Tyto výsledky mohou mít přímý dopad na nové koncepty experimentální terapie DLBCL cílené na inhibici proteinů BCL2 a/nebo MCL1.

Vysokodávkovaný cytarabin (HDAC, high-dose cytarabine) se stal standardní součástí léčby mladších pacientů s MCL. Přesto pacienti prodělávají návrat (relaps) choroby i po léčbě založené na HDAC. Molekulární mechanismy rezistence na cytarabin nebyly u lymfomů (na rozdíl od akutních leukémií) systematicky zkoumány. Za účelem studia mechanismů rezistence na cytarabin jsme odvodili několik klonů ustálených MCL linií rezistentních na cytarabin (viz práce č.3). Zjistili jsme, že hlavním mechanismem získané rezistence k cytarabinu je snížení exprese deoxycytidinkinázy (DCK), enzymu, který je nezbytný pro fosforylaci, a tedy aktivaci nukleosidových analogů po jejich vstupu do buňky. Snížení exprese DCK vedle rezistence k cytarabinu způsobuje rezistenci k ostatním nukleosidovým analogům používaným v léčbě MCL (např. fludarabin, cladribin, gemcitabin), což jsme prokázali také *in vivo* na námi odvozených myších modelech lidského MCL. Výsledky naší práce naznačují, že pacienti, kteří progredují či relabují po režimu založeném na HDAC, by neměli být léčeni nukleosidovými analogy, konkrétně fludarabinem, gemcitabinem a kladribinem.