

mgr Łukasz Komorowski

Streszczenie w języku polskim

Specyficzna dla komórek limfoidalnych rola systemu tioredoksyny w przeżywalności oraz wrażliwości na leki białaczek z translokacją BCR-ABL1

Fuzja genów *BCR* oraz *ABL1* jest rezultatem translokacji pomiędzy chromosomami 9 i 22. Powoduje ona powstanie nieprawidłowego chromosomu Filadelfia (Ph), kodującego BCR-ABL1, konstytutywnie aktywną kinazę tyrozynową. BCR-ABL1 jest charakterystyczną cechą i głównym onkogenem przewlekłej białaczki szpikowej (CML). Pomimo, iż CML jest chorobą o historycznie złych rokowaniach, wprowadzenie do użytku klinicznego inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKIs) w znakomitej większości przypadków znacznie poprawiło skuteczność leczenia. Poza CML, chromosom Ph występuje również u części chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną z prekursorów limfocytów B (B-ALL). B-ALL jest częstym nowotworem pediatrycznym, charakteryzującym się akumulacją niedojrzałych limfocytów, występuje jednak również u dorosłych. W leczeniu B-ALL stosowana jest głównie chemioterapia, jednak w wielu przypadkach choroba nawraca w trudnej do leczenia, lekoopornej postaci. Z tego powodu, nowe strategie leczenia są pilnie potrzebne. Podtyp B-ALL z chromosomem Ph (Ph⁺ B-ALL) związany jest z wysokim, około 50% ryzykiem nawrotu choroby i niekorzystnym rokowaniem. Z tego względu, poszukiwanie nowych celów w terapii Ph⁺ B-ALL jest bardzo ważne.

Jedną z typowych cech wielu nowotworów jest zaburzenie homeostazy redoks, spowodowane nadmierną produkcją reaktywnych form tlenu (ROS). Aby przeciwdziałać szkodliwym efektom akumulacji ROS, komórki nowotworowe muszą zwiększać aktywność mechanizmów odpowiedzi antyoksydacyjnej. Badania wykazały wzmożoną produkcję ROS oraz podwyższoną ekspresję antyoksydacyjnych enzymów z rodziny tioredoksyn (TXN) w liniach komórkowych oraz materiale pierwotnym pochodzącym od chorych na B-ALL. Ponadto, wzmożone zaburzenie homeostazy redoks zostało zaobserwowane w podtypie Ph⁺ B-ALL.

Głównym celem poniższej pracy była ocena układu TXN jako potencjalnego celu terapeutycznego w Ph-pozytywnych (Ph⁺) białaczkach. Kolejnym celem było zaproponowanie nowej kombinacji leków i przetestowanie jej aktywności cytotoksycznej w badaniach *in vitro* w modelach komórkowych białaczek Ph-pozytywnych.

Pierwsze eksperymenty wykazały, że zahamowanie aktywności układu TXN za pomocą auranofiny (AUR) lub adenantyny (ADE) spowodowało wzmożoną śmierć limfoidalnych komórek Ph⁺ oraz uwrażliwiło je na TKIs. Ponadto, w porównaniu do mieloidalnych komórek CML, zaobserwowano podwyższoną ekspresję proksyredoksyny 1 (PRDX1), elementu układu TXN, zarówno w liniach komórkowych jak i materiale pierwotnym. Wyciszenie ekspresji PRDX1 za pomocą techniki CRISPR-Cas9 obniżyło żywotność, proliferację oraz zwiększyło wrażliwość na TKIs w limfoidalnych komórkach Ph⁺, natomiast w komórkach mieloidalnych nie zaobserwowano podobnych efektów. Wyniki te sugerują specyficzną dla komórek limfoidalnych rolę PRDX1 w białaczkach Ph⁺. Ponadto analiza RNAseq wykazała, że wyciszenie PRDX1 w limfoidalnych komórkach Ph⁺ spowodowało zaburzenia ekspresji wielu genów i szlaków niezbędnych dla podtrzymywania oraz przeżycia komórek, potwierdzając rolę PRDX1 w limfoidalnych komórkach Ph⁺. Co ciekawe, nie wykazano istotnych różnic w poziomach ROS oraz stresu siateczki śródplazmatycznej pomiędzy komórkami kontrolnymi i komórkami z wyciszeniem PRDX1. Zaobserwowano natomiast podwyższony poziom uszkodzeń DNA oraz zwiększenie ekspresji genów związanych z naprawą DNA poprzez scalanie niehomologicznych końców (NHEJ). Dalsze badania wykazały, że komórki Ph⁺ B-ALL są szczególnie wrażliwe na zahamowanie NHEJ, szczególnie przy jednoczesnym zahamowaniu układu TXN. Potrójna kombinacja TKIs, układu TXN oraz inhibitorów NHEJ dała obiecujące rezultaty, zarówno na liniach komórkowych jak i komórkach pierwotnych pochodzących od chorych na Ph⁺ B-ALL.

Podsumowując, w pracy wykazano specyficzną dla Ph⁺ komórek limfoidalnych rolę PRDX1 w żywotności, wrażliwości na terapię oraz utrzymaniu integralności DNA. Ponadto, układ TXN został wytypowany jako nowy cel terapeutyczny w Ph⁺ B-ALL, którego zahamowanie potęguje efekty standardowej terapii. Mechanizm NHEJ został również rozpoznany jako dotychczas nieznaną słaby punkt Ph⁺ B-ALL, warty dodatkowych badań. Podsumowując, przedstawione w poniższej pracy wyniki ukazują nowe potencjalne cele terapeutyczne, które w przyszłości mogą przyczynić się do poprawienia skuteczności terapii Ph⁺ B-ALL.