

Ústav hematologie a krevní transfuze: Oddělení proteomiky

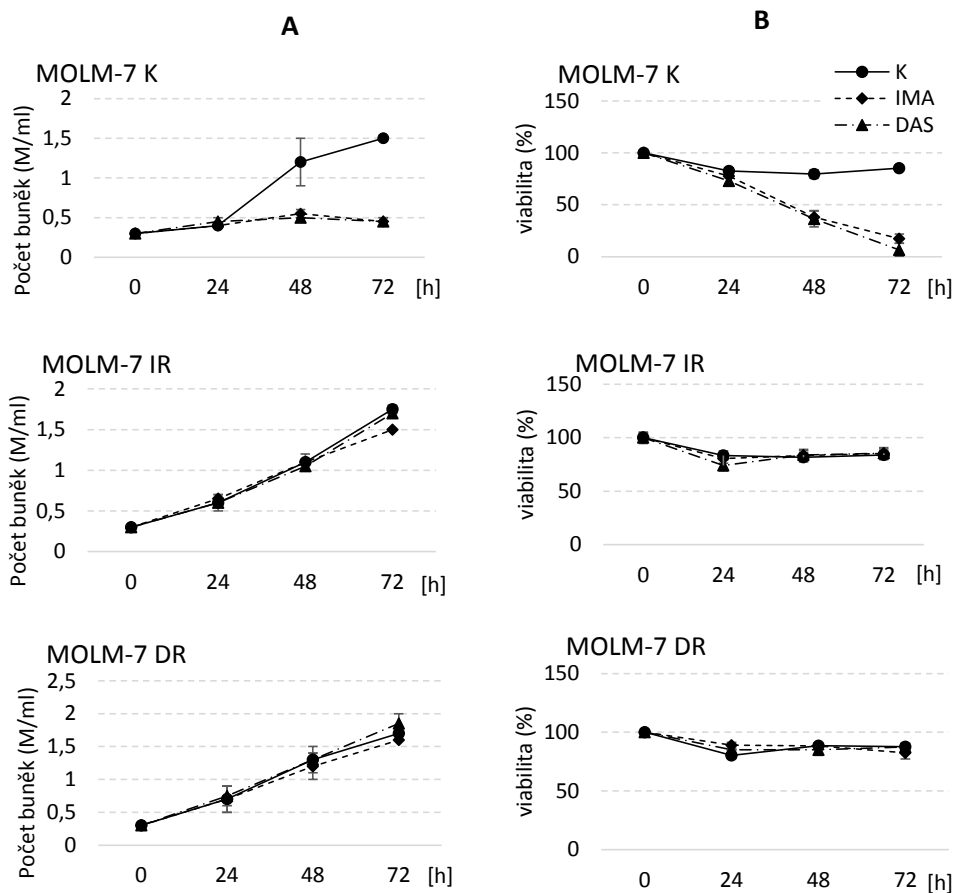
Vývoj a charakterizace modelů rezistence chronické myeloidní leukémie na léčbu

Přestože v současnosti je k dispozici bezpočet protinádorových léků, nezřídka dochází k selhání léčby v důsledku vývoje rezistence nebo intolerance vůči léku. Je tedy nutné určit mechanismy, které vznik rezistence ovlivňují, aby bylo možné zajistit vhodné způsoby, jak vzniku rezistence předejít, případně ji včas rozpoznat a následně řešit.

Jednou z metod vhodných ke studiu rezistence a mechanismů jejího vzniku je zavedení buněčných modelů *in vitro*. Buněčné linie rezistentní k léčivům jsou nejen dobrým modelem pro pochopení procesů/mechanismů rezistence k léčbě, ale jsou využitelné také pro vývoj a screening nových léčiv a pro testování nových metodik potenciálně využitelných k prověření ukazatelů onemocnění či odpovědi na léčbu.

Zabýváme se studiem rezistence k léčbě u chronické myeloidní leukémie (CML), a proto jsme vyvinuli několik sub-linií rezistentních k imatinibu a dasatinibu. Všechny sub-linie byly připraveny dlouhodobou kultivací s inhibitory tyrozinových kináz (TKI), konkrétně s imatinibem (lékem 1. generace) a dasatinibem (duálním inhibitorem, lékem 2. generace).

V současné době máme připraveny rezistentní klony různých typů buněčných linií odvozených od CML; zastoupeny jsou obě majoritní přestavby BCR-ABL (e13a2 a e14a2). Všechny ustavené linie byly charakterizovány z hlediska původu, byla také potvrzena rezistence k TKI pomocí růstových charakteristik (příklad na Obr. 1) a byly zjištěny hodnoty EC50 jako míra efektu TKI na buňky (Tab. 1).



Obr. 1 Růstové charakteristiky buněčné linie MOLM-7 a jejích rezistentních sub-linií. Grafy znázorňují růst buněk (A) a jejich životaschopnost (B) samotných (K) a v přítomnosti imatinibu (10 μM IMA) nebo dasatinibu (100 nM DAS). MOLM-7 K – kontrolní linie, MOLM-7 IR – sub-linie rezistentní k imatinibu, MOLM-7 DR – sub-linie rezistentní k dasatinibu.

	imatinib (μM)			dasatinib (nM)		
	EC50	range		EC50	range	
JURL-MK1	0,25	0,1	0,34	0,19	0,17	0,22
JURL-MK1 IR	39	27	56	> 100 nM	-	-
JURL-MK1 DR	1,1	0,99	1,3	1,3	1,1	1,5
MOLM-7	0,24	0,18	0,32	0,15	0,06	0,37
MOLM-7 IR	> 100 μM	-	-	1,1	0,89	1,3
MOLM-7DR	> 100 μM	9,00E-08	2,60E+12	> 100 nM	-	-
K562	0,25	0,14	1,2	0,35	0,32	0,38
K562 IR	5,1	3,5	9,5	3,8	2,3	7,2
K562 DR	25	2	-	4,7	2,9	8,9

Tab. 1 Hodnoty EC50 pro imatinib a dasatinib u jednotlivých linií.

Buněčné linie byly inkubovány s imatinibem (rozsah koncentrace 0 - 100 μM) nebo dasatinibem (rozsah koncentrace 0 - 100 nM). EC50 byly definovány jako koncentrace inhibitoru, která vyvolá snížení proliferace na 50 %.