

Szpiczak plazmocytowy (MM) jest nowotworem układu limfoidalnego dotykającym średnio 5,5/100 000 mieszkańców Europy, głównie osoby starsze - mediana zachorowania wynosi 67 lat. Wywodzi się z limfocytów B na końcowym etapie różnicowania, które w zdecydowanej większości przypadków wydzielają charakterystyczne dla tej jednostki chorobowej białko monoklonalne, będące bądź kompletną immunoglobuliną bądź łańcuchami lekkimi immunoglobulin. Objawy spowodowane są rozrostem komórek nowotworowych w szpiku kostnym oraz wysokim stężeniem krążącego białka monoklonalnego i obejmują głównie: zmiany kostne będące przyczyną złamań patologicznych, niedokrwistość, obniżenie odporności i niewydolność nerek.

W ciągu minionych 15 lat w terapii MM dokonał się przełom, związany z wprowadzeniem wielu nowych leków, obejmujących tak różne klasy jak inhibitory proteasomu (PIs), leki immunomodulujące, inhibitory deacetylazy histonowej czy przeciwciała monoklonalne. Postępy w terapii pozwoliły wydłużyć średni czas przeżycia pacjentów od momentu rozpoznania choroby z 3 lat do obserwowanych obecnie 6 lat. Niestety nawet po tak olbrzymim postępie, szpiczak plazmocytowy pozostaje chorobą nieuleczalną.

Dzieje się tak pomimo tego, że zdecydowana większość pacjentów odpowiada znaczną redukcją ilości komórek nowotworowych na terapię pierwszej linii rozpoczętą po rozpoznaniu objawowego MM i uzyskuje stan remisji. Nieuchronnie jednak, po różnym czasie, odzwierciedlającym różnorodność choroby, następuje nawrót, który po kolejnych cyklach leczenia, w końcu staje się oporny na wszystkie dostępne leki, a pacjent umiera w obrazie aktywnej choroby. Z tego powodu kluczowe dla dalszego rozwoju terapii szpiczaka plazmocytozowego, wydają się być badania nad nabytą opornością komórek nowotworowych na stosowane leczenie. Pomimo wielu wysiłków, do tej pory nie udało się stworzyć kompleksowego opisu tego procesu, który mógłby przyczynić się do opracowania skutecznej metody przełamania oporności.

Niezwykle istotną grupą nowych leków, obecną w prawie każdym schemacie terapeutycznym, są inhibitory proteasomu, a wśród nich bortezomib i karfilzomib. Proteasom jest agregatem enzymatycznym odpowiedzialnym za rozkład białek, które zostały wcześniej oznaczone i skierowane na szlak degradacji. Zablockowanie proteasomu przez leki powoduje akumulację wadliwych białek, co w konsekwencji prowadzi do uruchomienia w komórce mechanizmów apoptotycznych i śmierci. Wprowadzenie PIs do terapii szpiczaka plazmocytozowego znacznie poprawiło rokowanie pacjentów, jednak także i na te leki, wraz z postępowaniem choroby, rozwija się oporność.

Celem badania jest zbadanie mechanizmów odpowiedzialnych za nabytą oporność na karfilzomib i bortezomib. W tym celu, na bazie istniejących linii komórkowych MM, zostaną przez nas wytworzone in vitro linie komórkowe odporne na inhibitory proteasomu. Zostanie to osiągnięte przez długotrwałą inkubację komórek z cytotstatykami, których stężenie będzie systematycznie zwiększane. Po uzyskaniu oporności, wykonana zostanie porównawcza analiza proteomu (który jest białkowym odpowiednikiem genomu) pomiędzy komórkami wrażliwymi a opornymi, oraz pomiędzy komórkami opornymi na karfilzomib a komórkami opornymi na bortezomib. Do analizy wykorzystana będzie wysoko-efektywna proteomika, technika polegająca na globalnej analizie wszystkich białek występujących w komórce. Zaletą tego podejścia, w porównaniu do szerzej rozpowszechnionych badań, jak np. analiza ekspresji genów przy użyciu mikromacierzy, jest fakt, że w jego wyniku uzyskujemy profil białkowy, którego rola w biologii komórki jest decydująca. Natomiast w przypadku wyników badań oceniających globalną ekspresję RNA, z racji mechanizmów takich jak np. potranslacyjna modyfikacja białek, nie można mówić o ich bezpośrednim przełożeniu na fizjologię komórki.

W rezultacie porównania proteomu komórek opornych i wrażliwych uzyskana zostanie grupa białek, których poziom akumulacji różnicuje te populacje. Wyniki będą następnie zweryfikowane, przy użyciu metody Western blot, służącej do wykrywania w komórce konkretnych, z góry określonych białek.

Kolejnym etapem będzie weryfikacja, czy efekty zaobserwowane in vitro mają przełożenie na zmiany zachodzące w komórkach MM pochodzących od pacjentów. W tym celu analogiczne badanie metodą Western blot przeprowadzone będzie na oczyszczonych plazmocytach pobranych ze szpiku kostnego chorych wywodzących się z dwóch grup: z noworozpoznanym szpiczakiem plazmocytozowym, którzy dobrze odpowiedzieli na terapię bortezomibem (wrażliwi na PIs) oraz pacjentów opornych, u których zaobserwowano progresję choroby pomimo leczenia bortezomibem i/lub karfilzomibem. Ponadto stężenie białek-biomarkerów określane będzie w obu tych grupach również w surowicy.

W przypadku, gdy badania walidacyjne na liniach komórkowych i na materiale pobranym od pacjentów potwierdzą wyniki uzyskane z analizy proteomu, wykonane zostaną badania funkcjonalne, których zadaniem będzie sprawdzenie czy wyłączenie ekspresji zidentyfikowanych białek o wyższej ekspresji w komórkach opornych spowoduje zwiększenie wrażliwości komórek opornych na inhibitory proteasomu.

Uzyskane przez nas wyniki przyczynią się do lepszego zrozumienia mechanizmów odpowiedzialnych za nabytą oporność na PIs. Określenie biomarkerów otworzy drogę do zdefiniowania nowych celów terapeutycznych dla potencjalnych adjuwantowych leków, które mogłyby przełamać oporność na leczenie. Identyfikacja tych białek w surowicy pozwoli natomiast na dalszą, perspektywną ocenę ich przydatności jako czynnik rokowniczy pozwalający przewidzieć odpowiedź chorych na leczenie bortezomibem lub karfilzomibem, co pozwoliłoby na skuteczną indywidualizację terapii.