

Wprowadzenie: Ostre białaczki szpikowe (mieloblastyczne) (obsz, AML – ang. *acute myeloid leukemia*) to choroby, w których dochodzi do klonalnej proliferacji i kumulacji niedojrzałych morfologicznie i czynnościowo komórek blastycznych, wywodzących się z prekursorowej komórki hematopoetycznej, która uległa nowotworowej transformacji. Podstawą leczenia ostrych białaczek szpikowych jest chemioterapia. Standardowe leczenie dzieli się na leczenie indukujące remisję oraz leczenie poremisyjne. Główną zasadą działania leków cytostatycznych jest indukcja szlaków apoptotycznych w komórkach białaczkowych. Leki te uszkadzają DNA wskutek czego dochodzi do pobudzenia apoptozy. Istnieje wiele przyczyn oporności komórek nowotworowych na chemioterapię. Poznanie tych przyczyn może przyczynić się w przyszłości do stworzenia nowych, bardziej skutecznych strategii leczenia. Wyniki przeprowadzonych badań dowodzą, że chemioterapeutyki mogą indukować inne niż apoptoza typy śmierci komórek nowotworowych. Do procesów tych można zaliczyć między innymi autofagię, katastrofę mitotyczną, nekrozę jak również starzenie. Na szczególną uwagę zasługuje proces autofagii, która w przeciwieństwie do procesu apoptozy i martwicy, nie jest wyłącznie synonimem śmierci komórki.

Cel pracy: Głównym celem pracy było zbadanie prognostycznego znaczenia autofagii oraz apoptozy komórek blastycznych u chorych na ostrą białaczkę szpikową przed i po leczeniu indukującym remisję choroby.

Materiał i metody:

Do badania zostało włączonych 38 chorych na ostrą białaczkę szpikową (obsz), 20 mężczyzn i 18 kobiet, (29 chorych ze świeżym rozpoznaniem, 2 osoby ze wznową i 7 w przebiegu MDS lub MPS) hospitalizowanych w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2011- 2014.

W badaniu wykorzystano metody: (1) cytofluorymetria przepływowa, przy pomocy której dokonano oceny odsetka komórek apoptotycznych, (2) RQ-PCR, przy pomocy której dokonano oceny ekspresji białek ATG5 oraz MAP1LC3 oraz (3) Western blot, przy pomocy której dokonano oceny ekspresji białek LC3-IB i LC3-IIB. Uzyskane wyniki opracowano w oparciu o komputerowy pakiet programów statystycznych EPIINFO Ver. 7.1.1.14 (02-07-2013).

Wyniki: Przeprowadzone przez mnie badania odsetka komórek apoptotycznych przed leczeniem indukującym remisję nie wykazywały istotnych statystycznie różnic zależnych od uzyskania remisji po leczeniu, zarówno w przypadku apoptozy wczesnej, późnej jak i apoptozy całkowitej. Zwraçał jednak uwagę fakt, że w grupie chorych, którzy uzyskali

remisję liczba (%) pacjentów z odsetkiem komórek apoptotycznych powyżej mediany (5,79) wynosiła 12 (60%), a w grupie bez remisji była mniejsza (7 chorych, 38,8 %).

Badania po leczeniu indukującym remisję wykazały, że w grupie chorych, która uzyskała odpowiedź, odsetek komórek apoptotycznych w fazie apoptozy wczesnej wykazywał trend wzrostowy ($p=.0613$), a odsetek komórek w fazie apoptozy późnej i całkowitej (wczesnej i późnej) był istotnie większy (odpowiednio $p=.0130$ i $p=.0078$) w porównaniu do grupy bez remisji.

W grupie chorych, u których uzyskano remisję wykazano istotne zwiększenie odsetka komórek apoptotycznych w fazie apoptozy wczesnej, późnej i całkowitej (odpowiednio $p=.0438$, $p=.00102$ i $p=.00059$). Takiej prawidłowości nie udało się potwierdzić w populacji pacjentów bez remisji, zarówno dla apoptozy wczesnej, późnej jak i całkowitej ($p=.396$, $p=.231$, $p=.286$). Dla potwierdzenia tych obserwacji przeanalizowano również różnice pomiędzy wielkością zmian w poszczególnych stadiach apoptozy i wykazano, że w I grupie chorych, z remisją, w porównaniu do chorych bez remisji, wielkość zmiany w zakresie apoptozy późnej i całkowitej była istotnie większa (odpowiednio $p=.0165$, $p=.0050$).

W wykonanych przez mnie badaniach ekspresja białka ATG5 oraz MAP1LC3 zarówno przed jak i po leczeniu pomiędzy dwiema grupami: z remisją i bez remisji nie wykazywała różnic. Zwracał uwagę natomiast trend wzrostowy ekspresji białka MAP1 LC3 po leczeniu indukującym u chorych z remisją choroby ($p=.0930$).

W pracy nie wykazano także różnic w ekspresji białek LC3-I i LC3-II przed i po zastosowaniu chemioterapii zarówno w grupie chorych z remisją jak i bez remisji.

Obserwowane w mojej pracy zwiększenie ekspresji białka MAP1 LC3 po leczeniu indukującym u chorych z remisją choroby nie było związane ze zmianą stężenia białka LC3-IB i LC3-IIB oznaczanego w procedurze Western blot.

Wnioski: Apoptoza spontaniczna mierzona odsetkiem komórek apoptotycznych przed rozpoczęciem leczenia indukcyjnego nie miała wpływu na wynik tego leczenia u pacjentów z rozpoznaniem ostrej białaczki szpikowej. U pacjentów, którzy uzyskali remisję całkowitą, występował wyższy odsetek komórek apoptotycznych po leczeniu indukcyjnym, w związku z tym może on być wskaźnikiem prognostycznym w ostrej białaczce szpikowej. Badana w pracy ekspresja białek takich jak ATG5 i MAP1LC3, które to mówią o aktywności procesu autofagii, nie zmieniała się po leczeniu indukującym remisję w stosunku do ekspresji przed leczeniem, poza tendencją wzrostową (ale nieistotną statystycznie) ekspresji białka MAP1LC3. Dłuższy czas przeżycia miał związek z odsetkiem komórek w fazie apoptozy późnej i całkowitej oraz tendencją wzrostową ekspresji białka MAP1LC3.

Słowa kluczowe: ostra białaczka szpikowa, apoptoza, autofagia