

PRAKTICKÁ APLIKACE JEDNO-NUKLEOTIDOVÝCH POLYMORFISMŮ U ANALÝZY MNOHOČETNÉHO MYELOMU

PRACTICAL APPLICATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN MULTIPLE MYELOMA ANALYSIS

SLANÝ M.¹, ŠVÁCHOVÁ H.^{1,2}, HÁJEK R.^{1,3,4}

¹UNIVERZITNÍ VÝZKUMNÉ CENTRUM – ČESKÁ MYELOMOVÁ SKUPINA (URC-CMG), LF MU BRNO

²ODDĚLENÍ GENETIKY A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE, ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE, PŘF MU BRNO

³LABORATOŘ EXPERIMENTÁLNÍ HEMATOLOGIE A BUNĚČNÉ IMUNOTERAPIE (LEHABI), OKH, FN BRNO, PMDV

⁴INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO A LF MU BRNO, PMDV

Souhrn

Studium polymorfismů v genech asociovaných s mnohočetným myelomem (MM) je atraktivní oblastí výzkumu, který může přispět k celkovému pochopení této nemoci. Výzkumy v oblasti polymorfismů u MM jsou zatím na experimentální úrovni. Cílem této práce je demonstrovat na vybraných zahraničních pracích možnost klinického využití polymorfismů v oblasti MM.

Klíčová slova: genomika, jedno-nukleotidové polymorfizmy, signální dráhy, mnohočetný myelom.

Summary

Study of polymorphisms in genes associated with multiple myeloma (MM) is promising field of research. Study of this field could bring important piece to a global understanding of this illness. Research of polymorphisms associated with MM still remain at experimental stage. The aim of this work is to demonstrate a possible clinical utilization of polymorphisms in MM field.

Keywords: genomics, single nucleotide polymorphisms, signalling pathways, multiple myeloma.

Úvod

Jednou z možných aplikací metod molekulární biologie pro studium genetických změn u MM je detekce jednobodových nukleotidových polymorfismů (SNP). Studium asociace SNP s nádorovými onemocněními zažilo v posledním desetiletí nebývalého rozmachu. Tato oblast se zdá být nadějnou pro farmakogenomické aplikace. Většina prací je zatím pouze na experimentální úrovni, neboť stále probíhá testování kandidátních polymorfismů na jejich klinickou relevanci. Jelikož se ale jedná o komplikovanou oblast výzkumu MM byly v literatuře zatím popsány pouze ojedinělé práce s klinicky významným výstupem.

Praktická aplikace SNP technologií

Možnou klinickou aplikovatelnost SNP analýzy MM je možno demonstrovat na studii vlivu polymorfismu u genů DNA opravy (*ERCC1*, *ERCC2*, *XRCC3*) a apoptických genů (*PPP1R13L*, *CD3EAP*) na účinnost chemoterapie (Melfalan) u 348 pacientů s MM (2). Analýza polymorfismů byla provedena pomocí Real-time PCR za použití TaqMan sond. Bylo zjištěno, že přítomnost polymorfismů *ERCC2 K751Q*, *CD3EAP G-21A* a *XRCC3 T241M* je spojená s prodloužením intervalu pro účinnou dobu léčby (TTF) pomocí Melfalanu (Tabulka č.1). Přítomnost polymorfismů forem genů vede k nižší kapacitě opravy DNA, a proto je daleko pravdě-

podobnější usmrcení maligních buněk. Vlivem vysoké koncentrace alkylačního činidla dochází k poškození DNA plazmatických buněk, což při nedostatečné opravě DNA u jedinců s indikovanými polymorfizmy vede k indukci apoptózy.

Dalším příkladem pro možnost aplikovat detekci polymorfismů do oblasti studia MM je práce Nebena a spol. z roku 2002 (1). Byla provedena studie vlivu polymorfismu promotoru genu pro Tumor nekrotizující faktor α (*TNF- α*) na účinnost thalidomidové léčby u pacientů s MM. Thalidomid má antiangiogenní a imunomodulační vlastnosti a inhibuje tvorbu *TNF- α* *in vitro*. Studie prověřila polymorfizmy na promotoru *TNF- α* v pozicích -308 G/A a -238 G/A. Typizace odpovídajících polymorfismů byla provedena pomocí sekvenčně specifické PCR. Souběžně byly imunochemicky měřeny hladiny *TNF- α* u pacientů s MM (relabovaný nebo s perzistentním MM). Bylo zjištěno, že alela -238A je asociována s vyšší hladinou *TNF α* před léčbou. Vysoký medián přežití byl pozorován ve skupině pacientů majících alelu -238G (viz. obrázek č.1).

Závěr

Využití SNP analýzy u MM má doajista uplatnění v oblasti studia nádorových onemocnění. Právě přítomnost polymorfismu na genomu člověka je jedním z faktorů, který způsobuje odlišnost lidských jedinců. Například přítom-

příklady využití

nost polymorfizmu v genu podílejícím se na metabolické nebo signální dráze podaného léku může způsobit rozdílný efekt u jedinců zařazených do stejné analytické skupiny. Hlavním omezením pro úspěšnou aplikaci SNP do klinické praxe je zatím nedostatečná znalost interakcí v genech asociovaných s MM. Důkladná znalost klinicky relevantních polymorfizmů pomůže při diagnostice onemocnění, stanovení prognózy nebo pro výběr efektivní léčebné strategie.

Poděkování

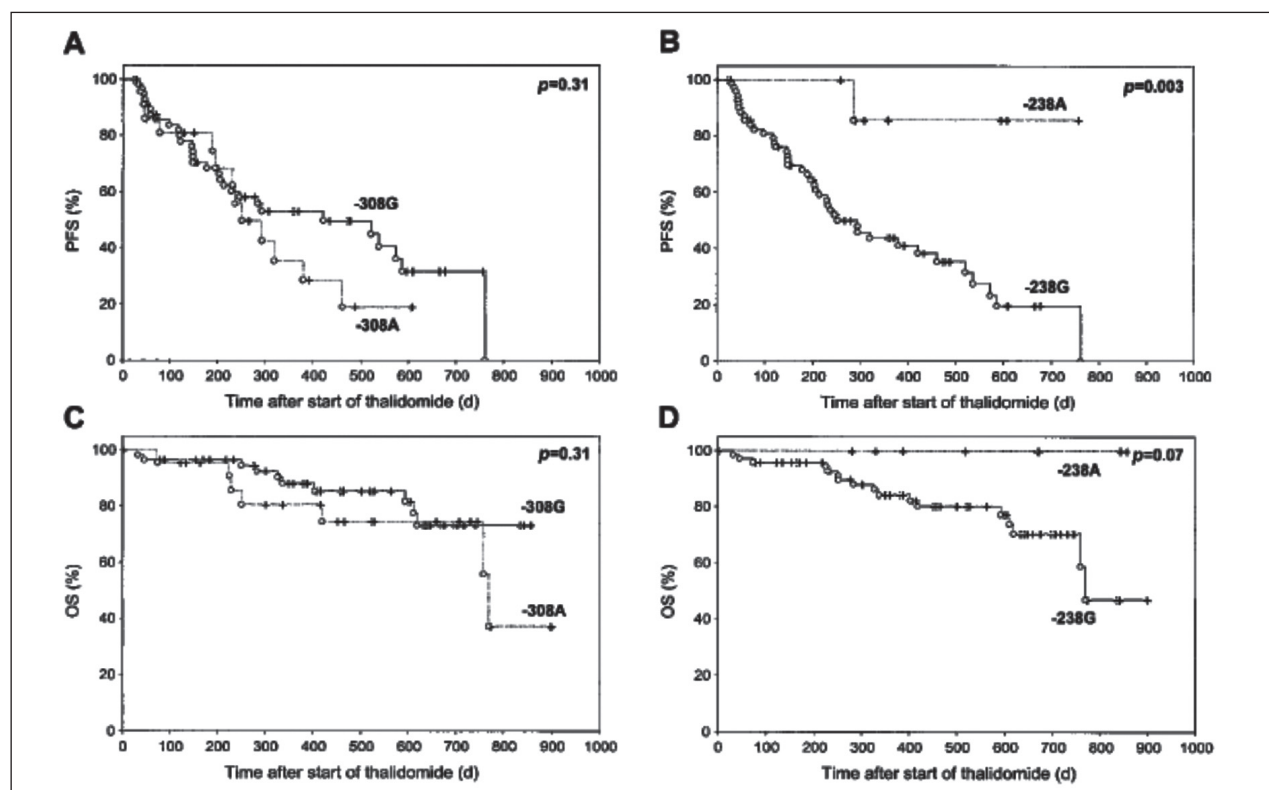
Práce byla podpořena projekty MŠMT LC06027 a MSM0021622434.

ERCC2 K751Q	CD3EAP G-21A	XRCC3 T241M	N	Median TTF (mo)	HR	p
AA ¹	GG	NI ²	94	23.4	1	
AA	AG + AA ³	NI	42	28.6	0.6 (0.4–1.0) ⁴	0.046
AC + CC	GG	NI	128	27.6	0.7 (0.5–0.9)	0.019
AC + CC	AG + AA	NI	68	48.6	0.4 (0.3–0.6)	<0.0001
AA ¹	NI	CC	46	17.5	1	
AA	NI	CT + TT	51	29.9	0.7 (0.4–1.2)	0.25
AC + CC	NI	CC	63	27.6	0.7 (0.5–1.2)	0.21
AC + CC	NI	CT + TT	81	49.9	0.4 (0.2–0.6)	0.0001
NI	GG	CC	78	22.5	1	
NI	GG	CT + TT	80	45.4	0.5 (0.3–0.7)	0.0004
NI	AG + AA	CC	31	69.4	0.4 (0.2–0.7)	0.001
NI	AG + AA	CT + TT	52	46.8	0.4 (0.3–0.7)	0.0006

Tabulka č. 1: Univariantní analýza vlivu kombinací polymorfizmů na TTF a medián přežití u pacientů s MM léčenými Melfalanem.

¹homozygotní nositel wild type alely, ²nezahrnuto do analýzy,

³heterozygotní nebo homozygotní nositel alely (Převzato Vangsted et al., 2007)



Obrázek č. 1: Charakterizace bezpříznakového období (PFS) a mediánu přežití (OS) u 81 pacientů s relabovaným a perzistentním MM pomocí polymorfizmů TNF- α -308A/G a TNF- α -238A/G. PFS byl počítán od začátku léčby thalidomidem do progresu onemocnění nebo smrti. Léčba thalidomidem byla zahájena dávkou 100 mg/den, poté byla každý týden dávka navýšena o 100 mg. Finální koncentrace thalidomidu 400 mg byla podána 22 týden po zahájení léčby (Převzato Neben et al., 2002).

Literatura

1. Neben K, Mytilineos J, Moehler TM et al. Polymorphisms of the tumor necrosis factor- α gene promoter predict for outcome after thalidomide therapy in relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood*. 2002; 100(6):2263-5.
2. Vangsted A, Gimsing P, Klausen TW et al. Polymorphisms in the genes ERCC2, XRCC3 and CD3EAP influence treatment outcome in multiple myeloma patients undergoing autologous bone marrow transplantation. *Int J Cancer*. 2007; 120(5):1036-45.