

Acute dasatinib exposure commits Bcr-Abl dependent cells to apoptosis

Snead JL, O'Hare T, Adrian LT et al, Blood 2009, 114, 3459-3463.

Úvod:

Pionýrská práce s prvním Bcr-Abl inhibitorem, imatinibem, ukázala, že pro maximální klinický prospěch léčby u pacientů s CML je nutná kontinuální inhibice Bcr-Abl. Tento fakt tak vytvořil určité paradigma, které v následujících letech ovlivňovalo vývoj nových tyrozinkinázových inhibitorů (TKI) pro tuto chorobu. Několik prací z poslední doby však ukazuje, že toto dogma o kontinuální inhibici Bcr-Abl u CML nemusí platit pro dasatinib. Klinické farmakokinetické studie ukázaly, že dasatinib má relativně krátký biologický poločas v plazmě (3 až 5 hodin). Navíc se ukázalo, že clearance dasatinibu je doprovázena opětovnou re-fosforylací proteínu CrkL. Tato klinická pozorování odrážejí preklinická data ze studií na myších, která ukázala, že plazmatický poločas dasatinibu je méně než 1 hod. a fosforylace CrkL dosáhla během 24 hod. úrovně před podáním dasatinibu. Navzdory krátkému biologickému poločasu bylo dasatinibem dosaženo klinických odpovědí ve studiích fáze I. i při podání 1x denně. Tato data naznačují, že u dasatinibu není vyžadována kontinuální inhibice Bcr-Abl k tomu, aby byly eliminovány CML buňky. Proto autoři v prováděných pokusech analyzovali, jestli transientní expozice CML buněk klinicky relevantním koncentracím dasatinibu neodvratně nasměruje CML buňky k apoptóze.

Výsledky:

Prokázalo se, že transientní inhibice Bcr-Abl dasatinibem je dostatečná k tomu, aby byla u CML buněk spuštěna apoptotická kaskáda vedoucí ke smrti buňky. Tento fenomén transientní expozice byl závislý na Bcr-Abl, protože apoptóza nebyla pozorována u identicky léčených Bcr-Abl negativních leukemických buněčných linií. Míra apoptotických buněk (2 CML linie) začala významně vzrůstat už po 30 min. expozici dasatinibu v nejnižší koncentraci (10 nM; $P < 0,001$). Téměř maximální hladiny apoptózy bylo dosaženo po vystavení buněk 100 nM dasatinibu (klinicky dosahovaná koncentrace), nezávisle na délce expozice. Důležitý poznatek byl, že fosforylace CrkL byla obnovena 4 hod. po odmytí dasatinibu, a proto tak vhodným způsobem napodobuje klinickou situaci při podávání dasatinibu 1x denně. Účinnost transientní inhibice Bcr-Abl dasatinibem je tak v ostrém kontrastu s předchozími pracemi s imatinibem, kde byla nutná kontinuální inhibice Bcr-Abl, aby došlo k indukci apoptózy. Aby bylo dosaženo podobné účinnosti jako u dasatinibu (má 325x vyšší účinnost než imatinib), musela být použita koncentrace imatinibu 32,5 μM , což je koncentrace $\sim 4\text{-}6\text{x}$ vyšší než je maximální plazmatická koncentrace při podávání imatinibu.

Protože byly zmíněné pokusy prováděny na 3 liniích odvozených z pacientů v blastické krizi, autoři rozšířili pokusy na primární progenitorové buňky z patientských vzorků. Myeloidní progenitory z pacientů v chronické fázi CML byly inkubovány in vitro s dasatinibem a měli sníženou schopnost dělit se. Apoptotická odpověď na 4 hod. expozici dasatinibu byla pozorována u 3 nezávisle testovaných CML vzorků. Míra odpovědi byla podobná jako u linie K562 testované ve stejných experimentálních podmínkách. Primární CML vzorky vystavené transientně 100 nM dasatinibu měly poté nižší absolutní počet buněk s klonogenním potenciálem granulocytů/makrofágů. CML vzorky vystavené transientnímu působení dasatinibu měly Bcr-Abl reaktivovanou podobným způsobem jako buněčné linie. Oproti tomu vzorek CML buněk z pacienta s Bcr-Abl mutací T315I neodpovídal na působení 100 nM dasatinibu, což ukazuje na to, že působení dasatinibu vyžaduje Bcr-Abl inhibici.

Závěr:

Tyto výsledky ukazují, že in vitro metodiky mohou predikovat klinickou účinnost TKI. Navíc tyto výsledky vyvolávají stále častější připomínky ke všeobecně přijímanému tvrzení, že pro optimální účinnost TKI je nutná kontinuální inhibice cílového proteinu.

Zpracovali: MUDr. Daniela Žáčková, Interní hematoonkologická klinika FN Brno a dr. Marek Šťastný, PhD., Bristol-Myers Squibb s.r.o.