

آلية المقاومة المكتسبة ضد علاج ابيت-١٩٩ (فينيتوكلاكس) في السلالة الخلوية إم في ٤-١١

عمر عبد الله اللحياتي

ARABIC ABSTRACT

المستخلص

عقار فينيتوكلاكس ابيت-١٩٩ هو مثبط عالي الانتقائية لليمفوما بائية الخلايا ٢. (BCL-2) حاز هذا العقار مؤخرًا على موافقة سريعة من إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) لاستخدامه بالمشاركة الدوائية مع العوامل المثبطة لمثيلة الحمض النووي أو مع جرعة منخفضة من سيتارابين لدى مرضى سرطان الدم النخاعي الحاد (AML) **من المسنين** أو غير المؤهلين لتلقي نوع آخر من العلاجات. وأظهر علاج AML المعتمد على عقار فينيتوكلاكس سلامة مقبولة ومعدل استجابة عام إيجابي لدى مرضى ابيضاض الدم النقوي الحاد المسنين. إلا أن اكتساب مقاومة لفينيتوكلاكس يعدّ السبب الرئيسي لفشل العلاج. تُعزى المقاومة لـ ابيت-١٩٩ عمومًا إلى زيادة مستويات MCL-1 و/أو BCL-XL، أو اكتساب طفرات في **مورثة BCL-2، BCL-2، على سبيل المثال، G101V في ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن CLL و P104I في اللمفوما الجريبية.**

لدراسة آليات المقاومة المكتسبة لعلاج ابيت-١٩٩ استحدثنا سلالة خلوية إم في ٤-١١ مقاومة ل ابيت-١٩٩ عن طريق تعريض السلالة الخلوية إم في ٤-١١ إلى جرعات متزايدة من الدواء بدءاً من ١ nM إلى ١٠٠ nM لمدة ثمانية أسابيع. ثم تم عزل خمس مستنسخات من السلالة الخلوية إم في ٤-١١ مقاومة لل ابيت-١٩٩ بعد استنبات الخلايا في وسط مثيل سلولوز. أبدت مستنسخات المقاومة للعقار (MV4-11 ABT-199R) مقاومة أعلى بـ ١٥٠ - ٣٥٠ ضعفاً ل ابيت-١٩٩ **بالمقارنة** مع الخلايا الوالدية. وأظهر الفحص بتقنية المصفوفات الجينية الدقيقة كلتي المستنسخين المقاومين (ABT-199/R1، ABT-199/R2) تثبيط التعبير الجيني BAX بالمقارنة مع خط الخلية الوالدية. (MV4-11) ثم أجرينا لاحقاً التحليل الجينومي للدنا بواسطة جهاز تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR وذلك لمورثة BAX الذي كشف عن الحذف الجزئي في المستنسخات المقاومة التي شملت منطقة المحرض والإكسونات الثلاثة الأولى لمورثة BAX. نظراً لحذف الجينات **BAX+BAX**، أظهرت المستنسخات المقاومة أيضاً مقاومة مشتركة لـ ABT-737 مثبطات BCL-2 و **BCL-2** و **BCL-XL** و **S63845** (م) و **S63845** مثبط (MCL-1) و **S55746** (م) مثبطات. (BCL-2)

ملخص القول إننا نعلن عن آلية جديدة لمقاومة عقار فينيتوكلاكس عن طريق الحذف الجينومي لمورثة BAX في خلايا MV4-11. إذ أنه نتيجة لحذف الجينات BAX، فإن مثبطات BCL-2 و BCL-XL و MCL-1 تفقد فعاليتها في إحداث موت الخلايا المبرمج. مما يستدعي الحاجة إلى استكشاف آليات بديلة لتحريض موت الخلايا المبرمج للتغلب على المقاومة الناتجة عن حذف BAX. كما أنه ينصح بفحص المورثة BAX لدى المرضى الذين يظهرون مقاومة ABT-

MECHANISM OF ACQUIRED RESISTANCE TO ABT-199 (VENETOCLAX) IN MV4-11 CELL LINE

Omar Abdullah Allehyani

ABSTRACT

Venetoclax (ABT-199) is a highly selective B-cell lymphoma 2 (BCL-2) inhibitor. It recently received accelerated US FDA approval for use in combination with hypomethylating agents or with low-dose cytarabine in elderly or acute myeloid leukemia (AML) patients unfit for other treatment. Venetoclax-based AML treatment showed a tolerable safety and favorable overall response rate in elderly patients with AML. The acquisition of resistance to Venetoclax in AML is the leading cause of treatment failure. Resistance to ABT-199 is generally attributed to increased levels of MCL-1 and/or BCL-XL, or acquisition of mutations in the BCL-2 gene. To study the mechanisms of acquired ABT-199 resistance, we created ABT-199 resistant MV4-11 cells by treating MV4-11 cells with incremental doses of the drug starting from 1nM to 100nM for eight weeks. Five ABT-199 resistant MV4-11 clones were then isolated after culturing the cells in methylcellulose based medium. (MV4-11 ABT-199/R1 through 5). The MV4-11 ABT-199R clones demonstrated 160 – 350-fold higher resistance to ABT-199 than the parental cells. Microarray-based gene expression profiling of the two resistant clones (ABT-199/R1, ABT-199/R2) in comparison to the parental cell line (MV4-11) showed downregulation of BAX gene expression. We subsequently performed genomic DNA PCR for the BAX gene that revealed a micro-deletion in the resistant clones that included the promoter region and the first three exons of the BAX gene. Due to BAX gene deletion, the resistant clones also demonstrated co-resistance to ABT-737 (BCL-2 and BCL-XL inhibitor), S63845 (MCL-1 inhibitor), and S55746 (BCL-2 inhibitor).

In summary, we are reporting a novel mechanism of Venetoclax resistance by genomic deletion of BAX in MV4-11 cells. As a result of BAX gene deletion, the inhibitors of BCL-2, BCL-XL, and MCL-1 are rendered ineffective in inducing apoptosis. Alternative mechanisms of apoptosis induction need to be explored to overcome BAX deletion-induced resistance. Screening of BAX gene locus in patients showing ABT-199 resistance is advised.