



**INSTYTUT HEMATOLOGII
I TRANSFUZJOLOGII**

Marta Pelon

**Rola gankyriny jako modulatora działania
leków przeciwszpiczakowych**

Rozprawa doktorska napisana
pod kierunkiem
dr hab. Ireny Misiewicz-Krzemińskiej, prof. IHIT

Warszawa 2025

STRESZCZENIE

Białko gankyrina kodowane przez gen *PSMD10* w guzach litych jest znanym onkogenem. Funkcjonalnie działa jako regulator proteasomu i dostarcza mu substratów. Poprzednie badania wykazały, że podwyższony poziom gankyriny w komórkach plazmatycznych pacjentów z nowo zdiagnozowanym szpiczakiem plazmocytowym (MM) wiąże się z gorszym rokowaniem po leczeniu schematem VRD (bortezomib+ lenalidomid+ deksametazon). Analiza danych z bazy CoMMpass MMRF porównująca wpływ poziomów *PSMD10* na przeżycie pacjentów wolne od wznowy (PFS) i całkowite (OS) pacjentów wykazała, że wysoka ekspresja *PSMD10* była niekorzystnym czynnikiem prognostycznym u pacjentów, których terapia była oparta na inhibitorach proteasomu (PI) zarówno w obecności, jak i przy braku leków immunomodulujących (IMiD) w schemacie leczenia. Gdy terapia opierała się wyłącznie na IMiD, poziomy *PSMD10* nie wpływał na rokowanie.

Ekspresję *PSMD10* mierzono w liniach komórkowych szpiczaka plazmocytowego. Komórki *PSMD10_KO/WT* zostały uzyskane przy wykorzystaniu techniki CRISPR/Cas9. Funkcjonalne skutki wyłączenia ekspresji *PSMD10* za pomocą technologii CRISPR oceniano w testach funkcjonalnych *in vitro*.

Komórki pozbawione gankyriny (*PSMD10_KO*) charakteryzowały się zwiększoną aktywnością proteasomu i czasem podwojenia populacji komórek, zmniejszoną proliferacją i obniżoną syntezą białek w porównaniu do komórek kontrolnych, z obecną gankyriną (*PSMD10_WT*). Linie komórkowe pozbawione gankyriny wykazywały istotnie statystycznie zwiększoną oporność na bortezomib w porównaniu do komórek kontrolnych. Poprzez analizę profili ekspresji transkryptomu- techniką RNASeq, wykazano znaczące zmniejszenie odpowiedzi na stres retikulum endoplazmatycznego i odpowiedź na niesfałdowane białka.

Podsumowując, wyniki wskazują, że zmiany w biologii komórki szpiczaka oraz ich odpowiedzi na bortezomib wywołane zmianą poziomu ekspresji *PSMD10* są uzależnione od wyjściowego poziomu gankyriny w komórkach. Wykazanie związku między gankyriną a odpowiedzią na bortezomib może zatem stanowić nowy sposób kwalifikacji pacjentów z nowo zdiagnozowanym szpiczakiem do schematów leczenia. Dzięki zastosowaniu medycyny spersonalizowanej, gankyrina może stać się czynnikiem prognostycznym i przyczynić się do poprawy jakości i długości życia pacjentów, u których zdiagnozowano MM.

STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM (SUMMARY)

The gankyrin protein encoded by the *PSMD10* gene in solid tumors is a known oncogene. Functionally, it acts as a regulator of the proteasome and provides substrates to it. Previous studies showed that elevated levels of gankyrin in plasma cells of patients with newly diagnosed multiple myeloma (MM) are associated with a worse prognosis after treatment with the VRD (bortezomib+ lenalidomide+ dexamethasone) regimen. Analysis of data from the CoMMpass MMRF database comparing the impact of *PSMD10* levels on patients survival PFS and OS showed that high *PSMD10* expression was an unfavorable prognostic factor in patients whose therapy was based on proteasome inhibitors (PI), both in the presence and absence of immunomodulatory drugs (IMiDs) in the treatment regimen. When therapy was based on IMiDs only, *PSMD10* levels did not affect prognosis.

PSMD10 expression was measured in multiple myeloma cell lines. *PSMD10_KO/WT* cells were created by CRISPR/Cas9. The functional effects of *PSMD10* genetic knockout with CRISPR technology were evaluated using functional tests *in vitro*.

Cells lacking gankyrin (*PSMD10_KO*) were characterized by increased proteasome activity and cell population doubling time, reduced proliferation and downregulated protein synthesis compared to cells with gankyrin present (*PSMD10_WT*). Cell lines lacking gankyrin showed statistically significant increased resistance to bortezomib compared to control cells. By analyzing transcriptomic expression profiles by RNASeq, we showed a significant reduction in response to endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response.

In summary, the results indicate that changes in myeloma cell biology and their response to bortezomib induced by changes in *PSMD10* expression levels are dependent on the baseline level of gankyrin in the cells. Demonstrating a link between gankyrin and response to bortezomib may therefore provide a new way to qualify patients with NDMM for treatment modalities. Through the use of personalized medicine, gankyrin may become a prognostic factor and contribute to improving the quality and length of life of patients diagnosed with MM.