

ZÁVĚRY

Chronická myeloidní leukemie je maligní hematopoetické onemocnění, jehož molekulární podstata úzce souvisí s fúzním genem *BCR-ABL*. I přes tento jednotící prvek v CML je toto onemocnění velice heterogenní a vztah *BCR-ABL* k ostatním genům exprimovaným v leukocytech pacientů s CML není uspokojivě popsán. Stejně tak nejsou dobře popsány další onkogenní události a situace, kdy je CML na *BCR-ABL* částečně nezávislá.

Při studiu mechanismů CML byla pomocí PCR sledována kinetika fúzního genu *BCR-ABL* v poměru k normálnímu genu *BCR*. Tento poměr nejen dobře koreluje s rozvojem CML, ale je jejím lepším prognostickým faktorem, než samotná hladina *BCR-ABL*.

O vývoji a mechanismu maligního onemocnění vypovídá také stabilita genomu. Hledání změn v genomu 10-ti vzorků CML bylo provedeno pomocí CGH Arrayí. Tato metoda potvrdila variabilitu CML, nicméně nebyla detekována žádná změna, která by byla jednotně přítomna ve všech sledovaných případech CML.

Důležitou oblastí ve studiu molekulárních mechanismů maligních onemocnění je analýza genové exprese. K analýze exprese velkého množství genů byla použita metoda expresních arrayí. Pomocí této metody byly nalezeny geny, jejichž exprese je stejná ve všech sledovaných případech CML (37 vzorků CML). Tato exprese, uniformní ve všech vzorcích CML s různou dobou od diagnózy, různou léčbou, různou odpovědí na léčbu, různým typem přestavby *BCR-ABL* a různým věkem a pohlavím pacientů, je odlišná od exprese těchto genů v leukocytech zdravých jedinců. V CML bylo nalezeno 17 genů, se sníženou expresí. Mezi nimi byly *JunB*, *FOS* a *PBP*. Bylo nalezeno také 11 genů se zvýšenou expresí v CML v porovnání s expresí v leukocytech zdravých jedinců. Patří k nim urokináza, *IL1A* a *MMP8*.

Kinázová aktivita *BCR-ABL* je specificky inhibována imatinibem, látkou, která je úspěšně používána k léčbě CML. Mezi pacienty s různými léčebnými přístupy byla pomocí hierarchického shlukování nalezena skupina vzorků, ve které byla většina z imatinibem léčených a dále většina z vzorků pacientů s dobrou odpovědí na léčbu obecně. Tuto skupinu vzorků charakterizovala řada genů se zvýšenou expresí nejen oproti zdravým jedincům, ale také oproti ostatním vzorkům CML. Tyto geny (n=58) jsou možnými kandidáty pro objasnění mechanismů v CML, v době dobré odpovědi na léčbu, kdy je kinázová aktivita *BCR-ABL* inhibována imatinibem nebo jiným, nezávislým mechanismem. Mezi tyto geny patří *EGF*, plazminogen, angiopoietin 1 a *KDR*.

Mezi pacienty s CML jsou případy, ve kterých nízká hladina *BCR-ABL* nekoreluje se špatným klinickým stavem a s neuspokojivou odpovědí na léčbu. Je možné, že v těchto případech je CML částečně, nebo úplně nezávislá na *BCR-ABL*. Je zajímavé, že shluková analýza vzorků pacientů jasně vydělila skupinu sedmi vzorků (z celkového počtu 10-ti) pacientů, u kterých došlo alespoň v některé fázi vývoje CML k této diskrepanci mezi hladinou *BCR-ABL* transkriptů a klinickým stavem pacienta. U těchto vzorků byly popsány skupiny genů se zvýšenou, nebo sníženou expresí oproti ostatním vzorkům CML. Mezi geny se zvýšenou expresí (n=49) patří například *RCF2* a *IL12B*. Ke genům (n=17) se sníženou expresí u těchto vzorků patří například kaspáza 4. Tyto geny by snad mohly sloužit jako biologické markery pro případy CML ve kterých *BCR-ABL* bude mít snížený prognostický význam.

Zajímavým výsledkem je i vydělení tří vzorků pacienta s PCML (Periodic Chronic myeloid leukemia). Geny charakterizující tyto vzorky by opět mohly ukazovat na mechanismy vzniku periodicity v CML.

Pro potvrzení platnosti metody expresních arrayí a zároveň testování míry exprese a kinetiky zvolených genů, byla použita metoda PCR v reálném čase. Ke sledování byly zvoleny tři geny, z nichž dva na základě našich výsledků z expresních profilů. Jedná se o gen *PBP*, patřící do skupiny s uniformně sníženou expresí a *MMP8*, patřící do skupiny genů s expresí uniformně zvýšenou v CML. Výsledky PCR v reálném čase (normalizované na expresi 2 stabilně exprimovaných kontrolních genů) dále posílily domněnku o disregulaci *MMP8* a *PBP* v CML. Navíc v případě *MMP8* došlo k signifikantnímu nárůstu exprese korelujícímu se špatnou odpovědí na léčbu, kromě BC, kde došlo k mírnému poklesu.

Prezentované výsledky ukazují, že se analýzou profilů genové exprese podařilo nalézt geny charakterizující související skupiny vzorků CML a potenciální markery progresu onemocnění. Kvantifikace exprese vybraných genů potvrdila v některých případech korelaci s progresí CML, nebo s přechodem do blastického zvratu onemocnění.