

ABSTRAKT

Akutní myeloidní leukémie (AML) je maligní hematopoetické onemocnění, které je vysoce heterogenní zejména díky své klonální podstatě. Rozvoj sekvenování nové generace umožnil důkladně prozkoumat mutační pozadí AML. Bylo zjištěno, že asi 44 % pacientů má mutaci v některém z genů ovlivňujících metylaci DNA. Od té doby již mnoho autorů publikovalo prognostický význam určitých změn v metylaci DNA u AML. Žádný z těchto poznatků však nebyl převeden do klinické praxe, především kvůli značné rozdílnosti jednotlivých studií.

Cílem této práce bylo jednak hlouběji prozkoumat změny v metylaci DNA u pacientů se specifickým genetickým pozadím a pokusit se nalézt jejich prognostický význam. Dále jsme chtěli vyvinout nový způsob pro komplexní zhodnocení změn v metylaci DNA, u kterých byl již význam pro prognózu AML pacientů prokázán.

V našem prvním projektu jsme zkoumali celkové DNA metylační, hydroxymetylační a expresní profily AML pacientů s mutacemi v *DNMT3A* nebo *IDH1/2* nebo v obou těchto genech. Zjistili jsme, že každá mutace je spojena s charakteristickými změnami v hydroxy-/metylací DNA, které ovšem nejsou zcela reflektovány změnami v genové expresi. Pacienti s mutacemi v obou genech se vyznačovali smíšeným DNA hydroxy-/metylačním profilem, který byl nejpodobnější vzorkům zdravých dárců. Dále jsme našli prognosticky významnou hypermetylací v enhanceru genu *GZMB* ($p = 0.035$). Dříve, než jsme provedli validaci dat naměřených pomocí čipů v prvním projektu, porovnali jsme čtyři nejběžněji používané metody pro tyto účely: analýzu s použitím metylačně specifických restričních endonukleas, pyrosekvenaci, metylačně specifickou analýzu křivek tání s vysokým rozlišením a metylačně specifickou PCR. Pyrosekvenace byla zvolena jako nejvhodnější metoda především díky svému rozlišení na úrovni jednotlivých basí a snadnému provedení. V posledním projektu jsme se soustředili na nalezení komplexního přístupu pro hodnocení prognosticky významných změn v metylaci DNA. Navrhli jsme vlastní DNA metylační sekvenační panel a pro jeho vyhodnocení vyvinuli snadno spočítatelné MethScore, které spolehlivě rozdělilo pacienty dle jejich přežití ($p < 0.001$). Význam MethScore pro hodnocení prognosy pacientů byl dále ověřen v multivariantní analýze a validován na nezávislé kohortě AML pacientů. Ukázali jsme, že MethScore jako stratifikátor prognosy velmi dobře funguje i u pacientů se středním rizikem.

Naše práce přispívá k rozšíření vědomostí o epigenetické podstatě AML a prognostickém významu metylace DNA. Námi zavedené MethScore má nesporný potenciál pro zpřesnění prognosy AML pacientů se středním rizikem.