

ABSTRAKT

Metylace DNA je epigenetický mechanismus, který se významnou měrou podílí na regulaci genové exprese. Nezastupitelnou roli hraje při fyziologických, ale i patologických buněčných procesech. U akutní myeloidní leukémie (AML) má aberantní metylace DNA důležitou úlohu v patogenezí a progresi onemocnění. Pozměněná úroveň metylace DNA v promotorových a dalších oblastech je zkoumána především s ohledem na objasnění signálních drah zapojených v nádorové transformaci a její význam pro prognózu pacienta. Klinická důležitost metylace DNA byla potvrzena řadou nedávných publikací. Podle dat iniciativy Cancer Genome Atlas (TCGA) se u 44% pacientů s AML při diagnóze nacházejí mutace v genech přímo zapojených do regulace metylace DNA. Nicméně vliv těchto mutací na komplexní změny metylace DNA i genové exprese zůstává nejednoznačný.

Vyšetřili jsme metylaci DNA u 12 vybraných genů (*CDKN2B*, *CALCA*, *CDHI*, *ESR1*, *SOCS1*, *MYOD1*, *DAPK1*, *TIMP3*, *ICAM1*, *TERT*, *CTNNA1*, *EGR1*) – některé z nich byly potvrzeny jako tumor supresorové geny a 24 *HOX* genů společně s mutacemi v genu *DNMT3A* u 79 pacientů s AML při diagnóze. U pacientů s mutacemi v genu *DNMT3A* jsme našli nižší úroveň metylace DNA ($P < 0.0001$) i nižší počet současně hypermetylovaných genů ($P < 0.0001$). Dále jsme objevili spojitost mezi vyšší úrovní metylace a lepší prognózou. Nižší hladiny metylace byly spojeny s četnější frekvencí relapsů a s horším přežitím.

Targetovaným bisulfitovým sekvenováním a expresním profilováním jsme vyšetřili 14 pacientů s AML při diagnóze a směs CD34+ buněk zdravých dárců. Hierarchická klastrovací analýza metylačních a expresních dat odhalila nový klastr specifický pro *CBFB-MYH11* fúzní gen vzniklý inverzí chromozomu 16 - inv(16) či translokací chromozomu 16 - t(16;16). Oblasti unikátní pro tento klastr byly převážně hypometylované a přiřazené ke genům, které byly již dříve popsány jako zvýšeně exprimované u pacientů s *CBFB-MYH11*. Korelací expresních a metylačních dat jsme našli diferenciální metylaci genu *PBX3* korelující s jeho expresí. *PBX3* byl nedávno popsán jako klíčový vazebný partner *HOXA9* během leukemogeneze. U pacientů se zvýšenou expresí genu *PBX3* jsme detekovali vyšší incidenci relapsů.

Naše výsledky ukázaly jasnou spojitost mezi hypometylací vybraných genů a mutacemi v genu *DNMT3A*. Dále jsme objevili nové genomické oblasti ovlivněné aberantní metylací DNA, které jsou spojeny s expresí genů zapojených v leukemogenezi.