

ABSTRAKT

Molekulárně genetická analýza patří mezi základní vyšetření nezbytná k přesnému určení diagnózy, prognózy a léčby pacientů s AML. Vyšetření karyotypu umožňuje zařazení pacientů do základních rizikových skupin, molekulárně genetické metody jednak poskytují možnost další stratifikace pacientů v rámci jednotlivých podskupin, ale také umožňují (pomocí kvantitativní PCR) sledovat průběh minimálního reziduálního onemocnění (MRO) a s předstihem předvídat případný relaps onemocnění.

Cílem této práce bylo zhodnotit prognostický význam nových molekulárně genetických markerů u pacientů s AML, zejména u nemocných s příznivou (akutní promyelocytární leukemie (APL), CBF-AML) a střední (vliv přítomnosti mutací *FLT3* a dalších) cytogenetickou prognózou.

Pomocí kvalitativní PCR byla testována přítomnost fúzních genů *PML/RAR α* , *AML1/ETO* a *CBF β /MYH11*. Pacienti s fúzními geny *AML1/ETO* nebo *CBF β /MYH11* (CBF-AML) byli dále testováni pomocí sekvenační analýzy, případně restričního štěpení, na přítomnost sekundárních mutací genů *C-KIT*, *K-RAS*, *N-RAS* a *FLT3*. U pacientů se středním prognostickým rizikem byla sledována přítomnost interních tandemových duplikací genu *FLT3* (*FLT3/ITD*), mutací v tyrozininázové doméně tohoto genu (*FLT3/TKD*) a dále mutací genů *DNMT3A*, *ASXL1*. U pacientů s komplexními změnami karyotypu přítomnost mutací genu *TP53*. MRO bylo sledováno pomocí kvantitativní real time PCR. Následně byl analyzován vliv těchto molekulárních aberací na průběh a prognózu onemocnění u jednotlivých rizikových skupin pacientů.

Z celkem 654 nemocných byl u 141 (21,6 %) detekován některý z prognosticky příznivých fúzních genů: *PML/RAR α* (u 92 pacientů), *AML1/ETO* (27) a *CBF β /MYH11* (22). Pacienti s fúzními geny *PML/RAR α* a *AML1/ETO* měli výrazně nižší riziko relapsu onemocnění a téměř 70 % z nich přežilo 3 roky od diagnózy AML. Šanci na docílení CR u pacientů s fúzí *PML/RAR α* snižovala přítomnost *FLT3/ITD*. U pacientů s fúzí *CBF β /MYH11* byla pravděpodobnost relapsu vyšší a dlouhodobé přežití těchto pacientů bylo přibližně 60 %. Incidenci relapsů u pacientů s CBF-AML zvyšovala jednak přítomnost sekundárních mutací genů *C-KIT*, *K-RAS* a *FLT3/TKD*, ale i přetrvávající pozitivita MRO.

Do skupiny se střední cytogenetickou prognózou bylo na základě vyšetření karyotypu zařazeno 394 (60,2 %) pacientů. Mutace genů *FLT3* (*FLT3/ITD*, *FLT3/TKD*) a *DNMT3A* výrazně zvyšovaly pravděpodobnost relapsu onemocnění u této skupiny pacientů. Pacienti s *FLT3/ITD* dosahovali výrazně kratšího OS (3 roky po diagnóze přežilo pouze 17 % pacientů), bez ohledu na délku a místo inserce ITD. Mutace genu *ASXL1* neměly na prognózu onemocnění žádný výrazný vliv.

Do skupiny s nepříznivou prognózou bylo zařazeno 119 (18,2 %) pacientů, u 60 z nich byly detekovány komplexní změny karyotypu. OS po 3 letech od diagnózy byl u těchto pacientů pod 10%.

V této práci byl potvrzen nepříznivý vliv přítomnosti *FLT3/ITD* (nicméně nebyl prokázán žádný dodatečný vliv její délky, místa inserce ani procentuálního zastoupení mutované alely) a mutací *DNMT3A* genu na prognózu onemocnění AML. Dále byl prokázán negativní vliv sekundárních mutací na incidenci relapsů u pacientů s CBF-AML. Byla zavedena a optimalizována metodika pro sledování MRO u pacientů s nejčastějšími typy mutací genu *DNMT3A*.

Klíčová slova: akutní myeloidní leukemie – akutní promyelocytární leukemie – core binding factor AML – *FLT3/ITD* – *FLT3/TKD* – *DNMT3A* – *ASXL1* – mutace – prognóza.