

## ABSTRAKT

Transkripční faktor PU.1 je klíčovou molekulou řídící proces krvetvorby. Ztráta jeho funkce má za následek různé stupně poruchy diferenciacie prakticky všech krevních buněčných linií. S funkcí PU.1 v zajištění správného průběhu diferenciacie krevních buněk úzce souvisí také jeho role v potlačování procesu leukemogeneze. Snížená hladina PU.1 a poruchy schopnosti regulovat hladinu tohoto transkripčního faktoru v buňce jsou asociovány s různými formami akutní myeloidní leukémie (AML), ale také s dalšími hematologickými malignitami.

Myelodysplastický syndrom (MDS) je klonální onemocnění krvetvorby s výrazně variabilním projevem a průběhem, pro jehož patogenezi je typická porucha diferenciacie krevních buněk. Ta se projevuje ztrátou jejich funkce, vznikem elementů s morfológickými defekty (dysplasií) a hromaděním poškozených, nezralých buněk – blastů v kostní dřeni. Onemocnění MDS se často transformuje do AML. Charakteristickým rysem MDS je na molekulární úrovni potlačení exprese řady genů v důsledku aberantní zvýšené metylace DNA v jejich regulačních oblastech. Použití látek potlačujících metylaci DNA a obnovujících genovou expresi, jako je například 5-azacytidin (AZA), přináší v posledních letech klinicky významné výsledky při léčbě pacientů s MDS s vyšším rizikem (IPSS) a stalo se v podstatě již standardem. Navzdory řadě dílčích poznatků o působení AZA v MDS zůstává v porozumění mechanismům tohoto účinku mnoho nejasného. Komplikujícím faktorem poznání těchto mechanismů je především variabilita MDS na molekulární úrovni.

Podstatou této dizertační práce jsou nové poznatky o tom, že PU.1 patří mezi geny, jehož exprese je u významné části pacientů s MDS s vyšším rizikem potlačena vlivem metylace DNA v jeho regulační oblasti URE. Zjistili jsme, že hladina PU.1 v progenitorech pacientů s MDS významně souvisí s odpovědí těchto pacientů na léčbu AZA. AZA je schopen účinně demetylovat DNA v oblasti URE a iniciovat další epigenetické procesy na úrovni chromatinu. Tyto procesy ve svém souhrnu vedou ke zvýšení exprese PU.1 a k projevům iniciace myeloidní diferenciacie jak u modelových buněčných linií pro MDS tak u progenitorů izolovaných *ex-vivo* z kostní dřene z pacientů s MDS. Účinek AZA na expresi PU.1 a navození myeloidní diferenciacie lze dále ovlivňovat – zeslabovat i zesilovat – cytokiny včetně G-CSF, který je dnes intenzivně využíván v klinické praxi. AZA rovněž v modelových buněčných liniích pro MDS zastavuje buněčnou proliferaci a vyvolává v menší míře apoptózu.

Tato práce souhrnně přináší důležitá pozorování, která jsou v současnosti dále studována pro zjištění účinnosti AZA *in vitro*.