

Abstrakt

Expresse homeoboxových (*HOX*) genů je během hematopoézy přísně regulována a v průběhu diferenciace hematopoetických buněk dochází postupně k jejímu snižování. Naopak u leukemických buněk je exprese těchto genů velmi často narušena. U akutní myeloidní leukémie (AML) byla popsána rozdílná exprese *HOX* genů mezi jednotlivými subtypy definovanými dle cytogenetického a molekulárně-genetického vyšetření. V naší práci byla pomocí metody nesupervidovaného hierarchického klastrování podle hladiny exprese *HOX* genů rozdělena kohorta dětských pacientů s AML do 5 klastrů, které jsou charakterizovány přítomností nebo absencí typických molekulárních aberací. Zároveň byla vyšetřena exprese *HOX* genů ve zdravých populacích hematopoetických buněk, které odpovídají jednotlivým morfologickým stádiím leukemických buněk. Na základě výsledků lze konstatovat, že exprese *HOX* genů nekopíruje pouze vývojové/morfologické stádium, ve kterém byla leukemická buňka zastavena v průběhu maligního zvratu, ale změněná hladina *HOX* genů se přímo nebo nepřímo podílí na procesu leukemogeneze. Prokázali jsme, že hladina exprese *HOX* genů je také závislá na přítomnosti molekulárních aberací. Pro další studium jsme si vybrali AML pacienty s fúzním genem *PML-RAR α* , kteří mají celkově nejnižší expresi *HOX* genů. Zajímala nás regulace exprese *HOX* genů v této geneticky charakterizované podskupině. Na expresi *HOX* genů neměla u tohoto subtypu vliv přítomnost mutace *FLT3/ITD*, která je celkově spojována s vysokou expresí *HOX* genů, z čehož usuzujeme, že snížený expresní vzorec *HOX* genů bude závislý na přítomnosti fúzního proteinu *PML-RAR α* . U *PML-RAR α* pozitivních pacientů jsme prokázali asociaci nízké hladiny *HOX* genů s nízkou expresí histon demethyláz (*JMJD3* a *UTX*) a zároveň s vysokou expresí *de novo* DNA methyltransferáz. Pomocí látky ATRA degradující protein *PML-RAR α* a specifického inhibitoru *JMJD3* jsme ukázali, že exprese *HOX* genů je regulována přes *PML-RAR α /JMJD3*. Využitím chromatinové imunoprecipitace (ChIP) a ChIP s následnou sekvenací nové generace jsme dále stanovili konkrétní *HOX* geny, které jsou u *PML-RAR α* pozitivních leukemických buněk takto regulovány. V neposlední řadě jsme zjistili, že kombinace ATRA a *JMJD3* specifického inhibitoru způsobila synergický apoptotický efekt u ATRA senzitivní i ATRA rezistentní buněčné linie. Tento apoptotický efekt naznačuje možnost budoucího terapeutického využití u ATRA rezistentních *PML-RAR α* pozitivních pacientů.