

Abstrakt:

Myelodysplastické syndromy (MDS) představují soubor závažných hematologických onemocnění charakterizovaných neefektivní klonální hematopoézou v kostní dřeni, vedoucí k cytopenii v periferní krvi, vznikem transfuzní závislosti a s vysokým rizikem progresu do akutní myeloidní leukemie (AML). Onemocnění je podmíněno genetickými a epigenetickými změnami vedoucími ke vzniku patologických kmenových buněk, jež nejsou schopny dostatečně vyzávat v kostní dřeni do krevních elementů. Tyto změny jsou mezi pacienty velmi rozličné, což se odráží v různé klinické manifestaci, dosažení odpovědi na léčbu, celkovém přežití a v neposlední řadě tato heterogenita představuje i jistou výzvu ke studiu tohoto onemocnění. Podstatou předkládané disertační práce je studium patofyziologických projevů a konsekvencí vybraných genetických změn, především somatických mutací klíčových genů a dalších funkčních jednotek genomu, ve vztahu ke klinickému průběhu MDS a transformace do AML. Terapie vysoce rizikového MDS je aktuálně založena na hypometylačních léčích včetně 5-azacytidinu (AZA). Léčba vede k prodloužení vývoje onemocnění do AML, tento osud je ale nezvratný u drtivé většiny pacientů, kterých prognóza se v tento okamžik stává beznadějnou. Výsledky genetické analýzy pomocí sekvenování nové generace (NGS) sériových vzorků před léčbou AZA a v jejím průběhu u 38 pacientů (dosahujících mediánu celkového přežití 24 měsíců s dosažením klinické odpovědi u 60 % pacientů) přinesla identifikaci 116 somatických patogenních variant s alelickou frekvencí (VAF) >5 %. Zjistili jsme, že téměř polovina variant byla stabilní, zatímco ostatní varianty byly velmi dynamické. Pacienti s výrazným poklesem alelické zátěže při léčbě AZA dosáhli klinické odpovědi. Podobná analýza proběhla v rámci akademické randomizované studie, která porovnávala efekt přidání granulocyty stimulujícího růstového faktoru (G-CSF) k standardní terapii AZA (EudraCT#: 2013-001639-38). Pozorovali jsme záchyt 140 patogenních mutací u 70 zařazených pacientů. Z detekovaných variant negativně ovlivňovalo celkové přežití mutace v genech *DNMT3A* ($p=0.0131$), *ETV6* ($p=0.0012$), *EZH2* ($p=0.0044$) a pozitivně *SF3B1* ($p=0.0005$). Pro lepší studium AZA rezistence jsme vyvinuli z buněčných linií odvozených od pacientů s AML, které předcházelo MDS model rezistence na AZA, jehož stabilita byla ověřena transplantací do imunokompromitovaných myší kmene NSGS. Při zkoumání exprese mRNA a variant DNA fenotypu rezistentního k AZA jsme pozorovali deregulaci několika drah souvisejících s onkogenezí včetně signalizace fosfatidylinositol-3 kinázy (PI3K). Dále jsme ukázali, že tyto dráhy lze modulovat specifickými inhibitory, které sice blokují proliferaci buněk rezistentních k AZA, ale nejsou schopny zvýšit jejich citlivost k

AZA. Data tyto práce odhalují soubor molekulárních mechanismů, které lze cílit specifickými inhibitory a rozšířit tak terapeutické možnosti během progresu léčby AZA.

Klíčová slova:

MDS, AML, AZA, NGS, terapeutická rezistence