

Akutní myeloidní leukémie (AML) je heterogenní skupina maligních onemocnění charakterizovaná blokem diferenciací myeloidních progenitorů, proliferační výhodou a ztrátou schopnosti apoptózy. Léčba AML se v průběhu posledních dekad vylepšila, přesto lze vyléčit pouze část pacientů kombinací toxických cytostatik. V leukemogenezi t(8;21) pozitivní leukémie se předpokládá, že represorový komplex asociovaný s chimérickým proteinem AML1-ETO váže deacetylázy histonů (HDAC), inhibuje expresi AML1 cílových genů a tím způsobuje blok v myeloidní diferenciaci. Valproová kyselina (VPA) je schopna inhibovat HDAC a proto by mohla být vhodným kandidátem v léčbě AML1-ETO pozitivní AML. Hlavním cílem práce bylo charakterizovat diferenciací efekt VPA na AML1-ETO pozitivní leukemické buňky a určit změny v expresi AML1 cílových genů. Kasumi-1 (M2 AML1-ETO pozitivní), Kasumi-6 (M2 AML1-ETO negativní), MV4-11 (MLL-AF4 pozitivní) a K562 buňky byly léčeny VPA a 12-O-tetra-decanoylforbol-13-acetátem (TPA) a vyšetřeny průtokovou cytometrií a qRT-PCR. AML1-ETO pozitivní a negativní primární patientské blasty ze dne diagnózy byly ovlivněny VPA a TPA k potvrzení in vitro zjištění. VPA indukovala apoptózu u AML1-ETO pozitivních a MLL-AF4 pozitivních buněk. Změny v imunofenotypu prokazující diferenciaci byly pozorovány pouze u AML1-ETO pozitivních buněk (pokles exprese CD33/34/117 a nárůst CD11a/11b). Ukázalo se, že diferencované buňky jsou také AnnexinV pozitivní, tudíž jsme dále zkoumali vztah mezi diferenciací a buněčnou smrtí. Apoptóza byla zablokována kaspázovým inhibitorem a přesto zůstala diferenciací nezměněna. TPA bylo použito k vyloučení neschopnosti AML1-ETO negativní linie diferencovat a zjistili jsme, že tato linie podstoupí po léčbě TPA monocytární diferenciaci. Pomocí kvantifikace mRNA jsme prokázali, že léčba VPA zvýšila expresi genů PU.1, IGFBP7, BPI a C/EBP α pouze u AML1-ETO pozitivní linie a nikoliv u ostatních testovaných linií.