

# Genetické změny u dětských akutních leukemií

## Úvod

Naše laboratoře (CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN v Motole) se od devadesátých let podílejí na výzkumu odhalujícím vznik a vývoj leukemického klonu, zejména u dětských akutních leukemií. Věnovali jsme tomuto tématu řadu publikací v prestižních mezinárodních časopisech v oboru (např. *Blood*, *Leukemia*, *Clinical Cancer Research*).

V posledních letech se objevily možnosti tzv. celogenomových vyšetření. Tyto přístupy umožňují z malého množství pacientovy DNA vyšetřit plošně celý genom a odhalit tak řadu abnormalit, které jsou dosud používanými metodami neodhalitelné. Srovnání výsledků těchto vyšetření v různých stádiích vývoje leukemických buněk tak umožňuje odhalit i drobné genetické zásahy, které se podílejí na vzniku a progresi onemocnění.

Využití metodiky celogenomové SNP array (viz níže) pro nalezení prognosticky významných aberací v genomu leukemických buněk dětských pacientů dobře demonstrují tři příklady z posledních let. Monique den Boer se spolupracovníky odhalila v roce 2009 celogenomovou analysou malou podskupinu pacientů s velmi špatnou prognosou známou dnes pod názvem „BCR/ABL-like“ leukemie. Skupina Charlese Mullighana popsala pomocí této metodiky postupně významný rizikový dopad delecí v genu Ikaros (IKZF1) a posléze i přestaveb genu CRLF2 a JAK. Význam poruch v posledně jmenovaných genech se intenzivně ověřuje v rámci mnoha léčebných protokolů po celém světě a je velmi pravděpodobné, že vyšetření alespoň některého z nich se stane součástí iniciální diagnostiky všech dětských akutních lymfoblastických leukemií a rozhodovacího algoritmu při výběru intenzity léčby.

Stále podrobnější vyšetření genomu tak neslouží pouze poznávání biologických procesů vzniku a vývoje leukemické buňky, ale především – po adekvátním ověření – přímo k léčebným zásahům. Z hlediska „rutinního“ vyšetřování se dnes zdá pravděpodobné, že celogenomové vyšetření metodou SNP array nahradí v dohledné budoucnosti klasická vyšetření karyotypu včetně metod postavených na fluorescenční in-situ hybridizaci.

## Cíle

Provést celogenomové vyšetření leukemických buněk různých subtypů dětských akutních leukemií pomocí metody SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) array. Vyšetření doplní rutinní cytogenetickou a molekulárně genetickou analysu a umožní detekovat dosud neobjevené genetické změny. Porovnáním výsledků v různých stádiích vývoje leukemického klonu (od vzniku přes diagnosu k relapsu nemoci) určíme pořadí jejich vzniku a budeme dále analysovat jejich vliv na vznik leukemie, případně na dobrou či špatnou odpověď na léčbu.

Specificky se zaměřujeme na některé vzácné subtypy dětských leukemií (např. na TEL/ABL pozitivní ALL a leukemie s přestavbou genu MLL) a odpověď na některá známá cytostatika (zejména L-asparaginasu). Selektce těchto témat je logická, protože nemůžeme konkurovat velkým světovým skupinám ani počty pacientů ani rozpočty našich studií.

### **Metody**

SNP array s rozlišením 733 tisíc posic v genomu (Illumina HumanOmniExpress-12 v1.0 DNA Analysis BeadChip) umožní podrobnou analýsu pokrývající kompletní genom. Rozlišení metody – tedy počet jednotlivých vyšetřitelných změn – je v porovnání s výše citovanými pracemi díky postupu technologií trojnásobné. Budeme analyzovat DNA z leukemických buněk ve srovnání s DNA z normálních buněk pacienta, případně srovnávat vývoj genetických změn v různých stádiích nemoci.

Laboratoř je vybavena hybridizační stanicí pro provedení SNP array a softwarem pro analýsu dat.

### **Finanční náklady**

1 sada čipů pro 24 párových vzorků ~ 10 065€

Suma 500 000 Kč pokryje náklady na provedení vyšetření 48 pacientů, resp. párových vzorků tedy např. vzorek leukemické DNA vs. vzorek zdravé DNA pacienta; nebo vzorek z diagnózy onemocnění vs. vzorek z relapsu.

### **Kontakt**

Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

*CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague*

vedoucí Laboratorního centra Kliniky dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol

V úvalu 84

15006 Praha 5

Tel: (+420)224436580

Fax: (+420)224436521

e-mail: jan.trka@lfmotol.cuni.cz