

Hematopoéza byla mnoho let považována za nezvratný přímočarý proces, který postupným omezováním liniové plasticity vedl k vzniku zralých krevních elementů. V posledních letech se však objevily práce, které poukazují na nečekaně široký potenciál hematopoetických buněk, kdy i z lymfoidních prekurzorů mohou vzniknout zralé myeloidní buňky a naopak. Za fyziologických okolností je krvetvorba striktně regulována a definitivní osud buněk je ovlivněn mnoha faktory, které vedou ke změnám regulačních sítí zahrnujících transkripční faktory, epigenetické či post-transkripční modulátory. Jakékoli narušení této přísné kontroly, způsobené mutacemi nebo jinými událostmi, ovlivňuje proliferaci a liniovou plasticitu hematopoetických prekurzorů. To může vést ke klonálnímu růstu rozličné signifikance či k leukemogenezi. Změny v jednotlivých dráhách pak mohou ovlivnit i citlivost hematologických malignit na léčbu.

Pro lepší pochopení hematopoetické regulace jsme se rozhodli popsat změny genové exprese v průběhu fyziologického vývoje zdravých lymfoidních a myeloidních buněk, jakož i u buněk leukemických a to pomocí vlastní zjednodušené platformy založené na PCR v reálném čase. V sortovaných hematopoetických progenitorech a jejich maligních protějšcích jsme vyšetřili expresi 95 genů spojených s diferenciací vybraných leukocytárních populací nebo s leukemogenezi. Také jsme zkoumali změny exprese v jednotlivých subpopulacích nově popsané skupiny dětské ALL – leukémie s liniovým přesmykem. Tuto specifickou skupinu jsme dále popsali za použití průtokové cytometrie, detekce Ig/TCR přestaveb, cytogenetických a mutačních analýz a vyšetření metylačního statusu promotoru CEPBA. Nakonec jsme pomocí sekvenování nové generace vyhodnotili mutace v další jednotce ze širokého spektra hematologických malignit – MDS s vysokým rizikem. Opakované odběry vzorků před a během hypometylační léčby azacitidinem nám umožnily vyhodnotit dynamiku mutací v průběhu onemocnění.

V průběhu vývoje jednotlivých linií jsme pozorovali vyšší expresi různých genů. Například *PAX5*, *FOXO1*, *TCF3*, *BCL11A* a další byly více exprimovány v průběhu vývoje B-lymfocytů, zatímco *BCL11B*, *TCF7*, *HOXB4*, *NOTCH3* byly upregulovány v T-buněčném vývoji; během myeloidního vývoje jsme vedle jiných detekovali vyšší expresi genů z CEBP rodiny, *ID2*, *KLF4* nebo *MNDA*. Mezi zdravými a maligními populacemi bylo také pozorováno několik významných rozdílů. Vedle očekávané upregulace genů z rodiny HOX či genu *FLT3* byl nejvýraznější kontrast zjištěn v úrovni exprese *CCDC26* a *PAWR*, u nichž se předpokládá vliv na léčebnou odpověď u pacientů s ALL. Dále jsme popsali fenomén liniového přesmyku u ALL, který se většinou vyskytuje ve dnech 1 až 33 indukční terapie. U všech pacientů s tímto typem leukémie byla v čase diagnózy detekována membránová exprese

CD2, kdežto u pacientů bez liniového přesmyku byla CD2 pozitivita zachycena pouze vzácně. Monocytoidní populace vzniknuvší po liniovém přesmyku vykazovala stejný imunofenotyp i mRNA expresní profil jako normální monocyty od zdravých dárců. V této monocytoidní populaci však byly zjištěny přestavby imunoglobulinů specifické pro danou leukémii, což potvrzuje její leukemický původ. Expresní profilování poukázalo na *CEBPA* jako možný klíčový regulátor transdiferenciace, což dále podpořil průkaz hypometylace *CEBPA* promotoru. V naší kohortě nebyla zjištěna žádná další společná molekulární ani cytogenetická změna. Všechna uvedená expresní data ze zdravých i leukemických vzorků jsou dostupná ve veřejné databázi LeukoStage.org. Nakonec jsme popsali dynamiku mutací u pacientů s MDS během hypometylační léčby a identifikovali několik možností vývoje, které korelují s průběhem onemocnění. Objevili jsme mutace ovlivňující citlivost na azacitidin či přímo selektované terapií. Analýzou sekvenčně odebraných vzorků jsme byli schopni předvídat i blížící se klinický relaps onemocnění.