

## **Abstrakt**

Vysokou expresi genu Wilmsova tumoru 1 (*WT1*) nacházíme u většiny akutních leukémií a dalších hematologických malignit. *WT1* je proto považován za potenciální univerzální marker minimální reziduální nemoci (MRN), zejména u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML). Jiné studie však tyto výsledky nepotvrdily a role genu *WT1* ve sledování MRN stejně jako jeho prognostická signifikance tak zůstávají stále nejasné.

Existuje více než 36 variant genu *WT1*, které mají odlišné, částečně se překrývající funkce a jejich poměr významným způsobem ovlivňuje výslednou funkci *WT1*. Vzhledem k nedostatku publikovaných dat a absenci relevantní metodiky však doposud nebyl objasněn konkrétní význam expresního profilu izoforem *WT1*.

V rámci hlavního cíle této práce jsme vyvinuli unikátní metodiku pro kvantifikaci 4 hlavních izoforem *WT1* a stanovili jejich expresní profil ve vzorcích pacientů s AML, myelodysplastickým syndromem (MDS) a zdravých kontrol. Expresní vzorec izoforem *WT1* se liší mezi konkrétními diagnózami, ale v rámci daného typu malignity je překvapivě uniformní a nezávisí na hladině celkového *WT1*. Neprokázali jsme souvislost profilu izoforem *WT1* s prognózou pacientů.

Naším dalším cílem bylo definitivní stanovení prognostického významu celkové exprese *WT1* u dětské AML v rámci mezinárodní spolupráce. Výsledky analýzy rozsáhlé kohorty pacientů ukázaly, že *WT1* není nezávislý prognostický faktor pro léčbu dětské AML. V rámci spolupráce byla provedena také mutační analýza těchto pacientů. Přestože část mutací v genu *WT1* zasahuje do oblasti lokalizace qPCR systému pro detekci *WT1*, prokázali jsme, že tyto mutace neovlivňují kvantifikaci exprese *WT1*.

Kromě diagnostické exprese *WT1* jsme stanovili také prognostický význam hladiny exprese *WT1* před a po transplantaci kostní dřeně. Naše výsledky neprokázaly význam hladiny *WT1* v těchto časových bodech či jejího kontinuálního sledování v posttransplantačním období pro úspěšnost léčby transplantovaných pacientů s AML.

V rámci studia genu *WT1* jsme se zaměřili také na jeho potenciál v detekci MRN u dětské AML. Přestože většina studií zaměřených na toto téma je založena na analýze vzorků kostní dřeně, zjistili jsme, že pro účel sledování MRN představuje periferní krev vhodnější materiál pro kvantifikaci exprese *WT1*.

Součástí této práce bylo také srovnání exprese *WT1* na úrovni mRNA a proteinu. Přestože jsme neprokázali korelaci těchto dvou hladin, domníváme se, že studie založené na analýze mRNA *WT1* poskytují relevantní a velmi hodnotné výsledky zejména z klinického hlediska.

Výsledky pilotní analýzy poslední části této práce poukázaly na možné využití kvantifikaci exprese *WT1* v rámci diferenciatně diagnostického algoritmu, který je schopen lépe odlišit pacienty s refrakterní cytopenií a aplastickou anémií než doposud používané morfologické a cytochemické charakteristiky.

Tato práce přinesla nový pohled na roli genu *WT1* a jeho izoforem v hematopoéze i leukemogenezi a poukázala na možný význam poměru izoforem *WT1* v maligní transformaci hematopoietických buněk.