

## Abstrakt

Myeloidní leukémie představují maligní onemocnění charakterizovaná expanzí myeloidní krevní řady. Zatímco v případě chronické myeloidní leukémie (CML) je hlavní příčina onemocnění známa – t(9;22) a aktivita fuzního produktu BCR-ABL, s akutní myeloidní leukémií (AML) je spojena řada translokací a mutací. Cílem této práce je přispět ke zlepšení monitorování pacientů s myeloidními leukémiemi cestou detailního poznání exprese panleukemického markeru, genu Wilmsova tumoru (wt1). Prognostický význam celkové exprese wt1 je znám u pacientů s AML, nebyl ale jednoznačně potvrzen pro pacienty s CML. O expresi jednotlivých izoforem (celkem více než 36 proteinových produktů) existují velmi kusé informace v případě obou diagnóz i zdravé hematopoézy.

Většina této práce je soustředěna na CML, AML je věnována pouze omezená část. V rámci první části jsme prokázali vysoký prognostický význam celkové exprese mRNA wt1 pro pacienty s CML. Statistická hodnocení ukázala kritické hladiny wt1, které umožňují v porovnání s rutinně používaným markerem, hladinou transkriptu bcr-abl, upřesnit prognózu pacientů, kteří neodpovídají optimálně na léčbu. Dále jsme navrhli a optimalizovali reverzně transkriptázové PCR v reálném čase pro kvantifikaci vybraných variant wt1 (kombinace sestřihu exonu 5 a KTS sekvence, swt1 vs. wt1 plné délky). Zjistili jsme, že zatímco swt1 je exprimována ve velmi nízkých hladinách u pacientů s CML i AML a nelze ji proto považovat za kandidáta na prognostický marker, vysoké hladiny transkriptů variant -5/+KTS u pacientů s CML a +5/-KTS u pacientů s AML se jeví být novými, v porovnání s celkovou expresí wt1, specifitějšími rizikovými markery. Význam sledování poklesu celkové hladiny mRNA wt1 jsme potvrdili také *in vitro* po ošetření primárních leukocytů léčiv pro sledování citlivosti k léčbě. Wt1 jako marker v tomto smyslu jsme aplikovali v rámci paralelní studie miRNA v CML, kde naše data spolu s literaturou naznačila existenci zpětnovazebné regulační smyčky mezi BCR-ABL a miR-451, mechanismus potenciálně velmi významný pro udržení leukemického charakteru buněk.

Závěrem je možno shrnout, že celková hladina transkriptu wt1 může sloužit jako významný marker dalšího vývoje pacientů s CML, kteří neodpovídají dle současných kritérií optimálně na léčbu a u kterých rutinně používaný bcr-abl svůj význam často ztrácí. Vybrané varianty představují kandidátní rizikové markery specifické pro daný typ myeloidní leukémie. *In vitro* pomáhá hladina mRNA wt1 odhadnout účinnost působení léčiv a charakterizovat stav buněk.