

## ABSTRAKT

### **Téma: Využití molekulárně cytogenetických metod v reprodukční genetice**

Chromosomové abnormality jsou jednou z hlavních příčin vrozených vad, poruch fertility a/nebo lidské infertility. Přibližně 40-50% lidských plodů je chromosomově abnormálních. Chromosomové abnormality jsou příčinou asi 6% potratů v prvním trimestru těhotenství a vyskytují se u přibližně u 0,6% živě narozených dětí. Většina těchto CA má svůj původ v gametogenezi a vzniká poruchou procesu meiosis. Každá gameta je finálním a originálním produktem meiosis, nesoucí originální chromosomovou výbavu. Cytogenetické vyšetření gamet představuje proto důležitý úkol z hlediska porozumění mechanismu, původu a etiologie výše zmíněných chromosomových abnormalit. V tomto ohledu vyšetření gamet však představuje technicky náročný úkol.

Moje Ph.D. práce je zaměřena na rozvoj nových technik pro detekci chromosomových abnormalit v gametách a embryích. Vyvinuli jsme PNA-FISH metodu jako alternativu ke konvenční FISH a PRINS metodě, pro rychlou, účinnou a robustní *in situ* detekci chromosomových abnormalit v lidských gametách, polárních těliscích a blastomerách. S použitím přímo značených PNA sond pro chromosomy 1, 4, 9, 16, X a Y jsme provedli jednoduchou i vícebarevnou PNA-FISH metodu. Tato práce potvrzuje efektivitu multibarevné PNA-FISH reakce jako významnou alternativu FISH pro *in situ* chromosomové vyšetření a demonstruje, že PNA sondy mohou být významnou alternativou konvenční metody FISH pro rychlou diagnostiku aneuploidií a doplňkem rychle se rozvíjejících arrayCGH metod.

Experimentální část mé disertační práce je založena na studiu aneuploidií ve spermiích u nosičů zárodečné mutace v genu TP53, pacientů s Li-Fraumeni syndromem. Důvodem této studie byly nedávno publikované studie o účasti genu TP53 ve spermatogenezi a nález dvou případů Turnerova syndromu u dětí v rodinách s Li-Fraumeni syndromem. Gen TP53, regulátor transkripce a tumor supresor, je také exprimován během časného embryonálního vývoje, který je u člověka asociován s vysokou chromosomovou instabilitou. Klíčovým regulátorem p53 je protein MDM2. Oba tyto proteiny jsou funkčně spjaty s apoptózou v zárodečných buňkách, což může ovlivňovat lidskou fertilitu. Chybí však důkazy, jak varianty v těchto genech mohou ovlivnit apoptózu zárodečných buněk a způsobit mužskou infertilitu. Naše studie našla zvýšenou frekvenci aneuploidií, zvláště gonosomů, ve spermiích nosičů zárodečné mutace genu TP53 oproti zdravým kontrolám a odhalila riziko chromosomových abnormalit u potomstva těchto nosičů. Tato pozorování mohou mít souvislost s účastí proteinu p53 ve spermatogenezi i s nálezem dvou případů Turnerova syndromu v rodinách se zárodečnou mutací TP53.

Poslední téma disertační práce se týká dopadu varianty rs6836703:G>A v genu pro ADP-ribosyltransferázu a její vliv na spermatogenezi u české populace mužů s oligozoospermii a azoospermii. Neplodnost postihuje v západních zemích 10 - 15% párů, přičemž asi u přibližně 50% případů mužské neplodnosti zůstává příčina neobjasněna. Z tohoto důvodu bylo publikováno velké množství prací, analyzujících genetické příčiny mužské neplodnosti. Studie v japonské populaci mužů prokázala, že varianta rs6836703:G>A v genu pro ADP-ribosyltransferázu (*ART3*) je signifikantně asociována s neobstrukční azoospermii. Cílem naší práce bylo stanovit frekvenci této varianty a určit její vliv na spermatogenezi u české populace mužů s oligozoospermii a azoospermii. Nalezli jsme významné rozdíly v distribuci alel/genotypů mezi fertilními muži a pacienty s oligozoospermii, zatímco u mužů s azoospermii nebyl tento rozdíl signifikantní. Zjistili jsme, že tato varianta je v populaci českých mužů asociována s oligozoospermii.